

N° D'ORDRE

49

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PAR

LE D^r PH. RUSSO

Licencié-ès-Sciences

MÉDECIN MILITAIRE

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES MICROSCOPIQUES ET ULTRAMICROSCOPIQUES
SUR QUELQUES ZYMASES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 9 Mai 1912, devant la Commission d'examen

MM. RAPHAEL DUBOIS, *Président*

E. DEPERET, {
JULIEN RAY, { *Examineurs.*



DINAN

IMPRIMERIE F. LE GOAZIOU

7, RUE DE LA FERRONNERIE 1, & 3 RUE DU FOSSE

1912

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

PAR

LE D^r PH. RUSSO

Licencié-ès-Sciences

MÉDECIN MILITAIRE

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES MICROSCOPIQUES ET ULTRAMICROSCOPIQUES
SUR QUELQUES ZYMASES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 9 Mai 1912, devant la Commission d'examen

MM. RAPHAEL DUBOIS, *Président*
E. DEPERET, { *Examineurs.*
JULIEN RAY, {



DINAN
IMPRIMERIE F. LE GOAZIOU
7, RUE DE LA FERRONNERIE & 3 RUE DU FOSSÉ

1912

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DEPÉRET, ✱ I. 
Correspondant de l'Institut.

Assesseur

M. VIGNON, ✱ I. 

Professeur Honoraire

M. LAFON, ✱ I. 

Professeurs

MM. ANDRÉ, O. ✱ I. 	<i>Astronomie physique.</i>
Correspondant de l'Institut et du Bureau des Longitudes.	
BARBIER, O. ✱ I. 	<i>Chimie Générale</i>
GOUY, ✱ I. 	<i>Physique</i>
Correspondant de l'Institut	
GÉRARD, ✱ I.  ✱	<i>Botanique</i>
DUBOIS, ✱ I. 	<i>Physiologie générale et comparée</i>
DEPERET, ✱ I. 	<i>Géologie</i>
Correspondant de l'Institut	
KÆHLER, I. 	<i>Zoologie</i>
OFFRET, I. 	<i>Minéralogie théorique et appliquée</i>
VIGNON, ✱ I. 	<i>Chimie appliquée à l'industrie et à l'agriculture</i>
FLAMME, I. 	<i>Mathématiques appliquées</i>
VESSIOT, I. 	<i>Mathématiques pures</i>
LE VAVASSEUR, I. 	<i>Calcul différentiel et intégral</i>

Professeurs Adjoints

MM. VAUTIER, I. 	<i>Physique</i>
RIGOLLOT, I. 	<i>Physique industrielle</i>
COUTURIER, I. 	<i>Chimie appliquée.</i>
GRIGNARD, A. 	<i>Chimie Générale.</i>

Professeur adjoint honoraire

M. AUTOMNE, ✱ I.  Ingénieur en chef des Ponts et Chaussées à Châteauroux.

Chargés de Cours et Maîtres de Conférences

MM. RICHE, I. 	<i>Géologie</i>
COUVREUR, I. 	<i>Physiologiste</i>
RAY, I. 	<i>Botanique</i>
BÉNARD, A. 	<i>Physique</i>
VANEY, I. 	<i>Zoologie</i>
MERLIN A. 	<i>Astronomie</i>
MEUNIER, A. 	<i>Technologie des industries chimiques</i>
CONTE, A. 	<i>Zoologie appliquée et Zootechnie</i>
BEAUVÉRIE, A. 	<i>Botanique agricole</i>
ROMAN, I. 	<i>Géologie et minéralogie agricole</i>
CHIFFLOT, I. 	<i>Géographie Botanique</i>
WIERNBERGER, A. 	<i>Mathématiques Générales</i>

Secrétaire

M. BAYLE, I. 

Recherches Microscopiques & Ultramicroscopiques

SUR QUELQUES ZYMASES

PAR

LE DOCTEUR RUSSO

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES NATURELLES

MÉDECIN MILITAIRE



I

Introduction.

II

*Exposé Historique des Théories relatives au mode
d'action intime des Zymases.*

III

Critique des hypothèses et Théories.

IV

Recherches sur les caractères physiques, microscopiques et ultra microscopiques des granulations zymasiques comparées aux autres granulations colloïdales.

V

Recherches comparatives sur les mouvements des granulations zymasiques.

VI

Théorie mécanique du brassage zymasique.

VII

Conclusions générales relatives au mode d'action des zymases.

Index Bibliographique.

INTRODUCTION

Les pseudo-solutions albuminoïdes biologiques, les diastases en particulier, n'ont été soumises que depuis peu d'années aux procédés des recherches ultramicroscopiques.

En 1903, Siedentopf et Zsigmsmondy inventèrent l'appareillage qui devait leur permettre de rendre utilisable pour le micrographe la réaction de Tyndall. Ils construisirent ce remarquable et si complexe dispositif qui leur faisait voir dans les verres colorés à l'or, les très fines particules brillantes du métal sur le fond obscur de la préparation. Dans les colloïdes minéraux, ils apercevaient des granulations dont quelques unes mesuraient seulement cinq millièmes de millimètre et défiaient tous les travaux antérieurs des physiciens dans la recherche des plus fins éléments des corps. Déjà ils confinaient peut-être au procédé qui nous permettra de voir ce quelque chose ignoré qu'est la molécule, sur quoi reposent toutes nos notions chimiques, et dont nous ne savons pourtant rien : mais ils demeuraient dans le domaine

de la physique et avant d'entrer fermement dans le sein des sciences de la vie, les méthodes ultramicroscopiques devaient voir un certain temps s'écouler encore. Les biologistes les délaissaient.

Mais pourquoi abandonnaient-ils un procédé qui pouvait être fructueux ? Pourquoi les travaux des physiciens devaient-ils aller plus avant, pourquoi Cotton et Mouton devaient-ils inventer leur petit et commode dispositif, avant que l'on voie se répandre l'étude des colloïdes vivants et appliquer à la biologie, ce qu'employaient déjà les hommes qui cherchent dans la voie des sciences physiques ?

La découverte de Siedentopf et Zsigsmundy est aujourd'hui ancienne de dix ans et au moment où elle fut publiée, les physiciens seuls s'occupaient des corps colloïdaux.

Dans le milieu biologique, presque personne ne songeait sérieusement qu'il y eut dans cette voie quelque chose à faire, des explications à chercher pour bien des phénomènes, des modes d'investigation nouveaux à créer. Quelques uns comme Traube, comme Leduc de Nantes avaient bien essayé d'établir une comparaison entre la cellule vivante et les utricules de colloïdes métallo organiques qu'ils obtenaient soit par le ferrocyanure de K et la gélatine, soit par le soufre et le Brome. Mais on n'avait presque pas daigné jeter un regard sur leurs travaux, ou on les avait dénigrés. Un élève de Paul Bert, le Prof^r Raphael Dubois avait au contraire pensé que c'était dans ce sens et dans celui-là seul qu'on trouverait la solution de la question tant de fois posée : qu'est-ce qu'un être vivant ? Et voyant les

cellules des organismes vivants formées toutes de substances colloïdales, les éléments fluides du milieu intérieur formés tous, de même, de substances colloïdales, voyant que seule la matière morte est cristalloïde, il avait hardiment entrepris de défricher ce champ encore inculte.

A une époque où l'ultramicroscope n'existait pas, il sut voir des éléments dont plusieurs savants nièrent l'existence, il sut comprendre des fonctions dont plusieurs chercheurs nièrent l'importance, il établit des théories que l'on soutint fausses. Et maintenant, peu à peu, à mesure que se perfectionnent les procédés d'investigation, les théories de M. le Prof^r R. Dubois prennent la place qui leur revient. Il y a quinze ans on niait, il y a six ans on doutait, aujourd'hui on est prêt à croire et je voudrais que les faits énoncés dans ce travail contribuent à montrer que M. le Prof^r R. Dubois a su voir par sa profonde compréhension des choses de la biologie ce que les moyens d'alors ne permettaient à ses sens que d'atteindre imparfaitement.

Dans ses leçons de Physiologie générale et comparée parues en 1898, M. le Prof^r R. Dubois divise déjà tous les principes immédiats en principes cristalloïdaux et principes colloïdaux et fait voir que ces derniers eux-mêmes sont au point de vue biologique soit actifs, soit passifs. — Passifs, ce sont la plupart des colloïdes libres dans les pseudo solutions du milieu intérieur : lymphes, sang, etc. et certains des colloïdes inclus dans les cellules ; actifs, ce sont les diastases, les zymases diverses, et la plupart des colloïdes intérieurs aux cellules.

Et un rapprochement très net est établi par le P^r R. Dubois entre les zymases et la substance vivante dans sa plus grande généralité, le « bioprotéon », comme il la nomme.

Parmi les granulations visibles à l'ultramicroscope dans les colloïdes, les plus volumineuses sont visibles au microscope ordinaire, et M. le P^r R. Dubois, les ayant aperçues, comprit combien tous ces éléments granulaires présentent d'importance dans les actes biologiques. Il pensa pouvoir admettre que les zymases sont constituées par des « corpuscules infiniment petits peu ou pas visibles » à l'aide de nos microscopes encore bien imparfaits, animés de mouvements empruntés au bioprotéon dont elles dérivent. Ces mouvements ondulatoires, vibratoires, comme les autres, mais ayant un rythme et une amplitude spéciale bioprotéonique ou vitale, sont capables de créer une agitation, un brassage également spécial dans les molécules, d'où résulteraient des hydratations, des oxydations, des dédoublements ne pouvant se faire autrement que dans les conditions signalées. Ces modalités doivent alors varier avec chaque zymase, nettement différenciée par les effets qu'elle produit. »

Mais en outre de ces caractères généraux, il nota que chez les colloïdes actifs, une fonction spéciale se manifeste, qu'il appela la fonction vacuolaire.

La fonction vacuolaire est attachée aux éléments que M. le P^r R. Dubois nomme vacuolides. Ce sont des granulations utriculaires plus ou moins volumineuses, susceptibles de croître ou de décroître

suivant l'intensité de l'osmose à travers leurs parois, osmose qui se fait spécifiquement et électivement, c'est à dire d'une façon telle que tels vacuolides sont susceptibles d'absorber telles substances dissoutes et non telles autres. Ces vacuolides sont les plus grosses parmi les granulations visibles à l'ultramicroscope, les plus fines de celles visibles au microscope. M. le P^r R. Dubois les vit dans les organes photogènes des élatérides lumineux, il les vit dans la purpurase et dans les liquides d'extraction de diverses glandes d'animaux. Dès 1886, il signale les vacuolides à la Société de biologie, en 1898, il les décrit. Chez certains de ces vacuolides il voyait même se former des cristaux de la matière absorbée, dans la cavité vacuolaire elle-même à mesure que la vacuolide grandissait. Or M. le P^r R. Dubois pensait qu'outre la fonction vacuolaire, c'est à dire de dialyse élective possédée par ces granulations et à laquelle il attachait déjà une importance prépondérante, il se pouvait que les granulations diastasiques ou zymasiques puissent agir aussi par cette sorte de brassage dont il parlait, à l'égard des corps introduits dans leur pseudo solution, pour modifier leurs conditions d'équilibre.

Ce sont là, combinés avec les mouvements browniens et les actions vacuolaires, les phénomènes que l'on trouvera plus loin décrits dans ce travail.

Les vacuolides existent dans les liquides de sécrétion des organes glandulaires, ils existent dans les cellules vivantes dont ils constituent la partie active.

« Les zymases sont, comme la substance vivante

» elle-même, à l'état colloïdal, mais elles diffèrent
» des colloïdes ordinaires par leur activité propre,
» souvent réversible : ce sont des colloïdes actifs
» qui, en plus n'agissent que dans les conditions de
» milieu chimique ou physique où la substance
» vivante elle-même manifeste son activité. »

Plus récemment encore, M. le P^r Raphaël Dubois, dans une note parue dans les compte-rendus de la Société de Biologie, séance du 26 décembre 1911, faisait ressortir les caractères vraiment spéciaux des zymases, caractères qui les rapprochent entièrement des grains visibles dans le protoplasme vivant, et permettent de dire que les zymases ne sont pas plus des produits de sécrétion des cellules que les granules protoplasmiques que l'on voit à l'intérieur de celles-ci, et qu'il faut bien distinguer des grains divers de ségrégation. Les granulations zymasiques de la purpurase que le savant lyonnais prend comme exemple dans cette note « ne sont pas des produits
» de fabrication de la cellule, mais bien au contraire, la partie active, agissante du bioprotéon
» des cellules purpuripares. » Et plus loin « la
» purpurase n'est pas un produit de l'activité
» cellulaire, elle résulte du développement de
» granulations bioprotéoniques actives par accroissement et multiplication. »

Ainsi M. le P^r R. Dubois avait vu en partie et déduit logiquement pour tout le reste ce que, des années après, l'ultra microscope devait permettre de constater directement. Il avait su trouver presque sans expériences, les raisons d'activité des liquides vivants, des ferments, des zymases, comme Leverrier avait

sans télescope trouvé la place de Neptune ; et le travail que l'on va lire a pour principal but la vérification des idées de M. le P^r R. Dubois, comme les descriptions des astronomes eurent pour but la vérification expérimentale des calculs de Leverrier.

EXPOSÉ HISTORIQUE DES THÉORIES ANCIENNES RELATIVES AU MODE D'ACTION INTIME DES ZYMASES.

CHAPITRE I

LES FAITS

Nous ne pouvons dans un exposé historique des théories émises sur les modes d'activité des diastases, remonter à une époque très éloignée de nous, car non seulement l'antiquité et le moyen âge ne connurent absolument rien de ces éléments ; mais encore dans les temps modernes, il faut venir jusqu'en 1826 pour trouver Mitscherlich qui le premier parle d'une propriété spéciale au liquide de macération de la levure de bière, propriété d'intervertir le sucre de canne tout comme la levure elle-même, tout comme les acides. Six ans plus tard Payen et Persoz retirent de la levure, au moyen de l'alcool une substance solide, blanche, amorphe, neutre, sans saveur marquée, insoluble dans l'alcool, soluble dans l'eau et l'alcool faible. Chauffée à $+65^{\circ}$, $+75^{\circ}$ avec de la fécule, en présence de l'eau, elle sépare de cette fécule une substance soluble qui est la dextrine « tandis que » des téguments insolubles dans l'eau surnagent ou » se précipitent suivant les mouvements du liquide » ; cette propriété de séparer les enveloppes des grains de fécule de leur matière intérieure fit donner à cette substance par Payen et Persoz le nom de diastase (δια-στασις).

Puis à cette première découverte, bien d'autres succédèrent qui montrèrent d'autres corps capables d'actions semblables à celle de la diastase. Ces corps provoquaient eux aussi, comme l'auraient fait des agents chimiques, des déshydratations ou hydratations, des oxydations ou réductions, des décompositions et recompositions, des décoagulations et coagulations. Alors, par assimilation au corps premier découvert, on les nomma des diastases, d'autres auteurs les appelèrent zymases, ou encore ferments solubles ; l'appellation d'ailleurs importe peu.

Ce que nous savons actuellement de ces corps est assez peu de chose, nous connaissons toutefois leur origine toujours cellulaire. Leur existence suppose celle d'une ou plusieurs cellules, de substance vivante, les ayant secrétées, puis lorsqu'ils sont mis en présence de la substance sur laquelle ils doivent agir, ils se comportent à son égard comme le ferait un agent chimique hydratant, oxydant, coagulant, etc., mais ils ne se combinent pas, ne s'usent pas ou presque pas, et agissent en quantités infimes sur d'énormes masses de matière.

Quelle est donc la nature de leur action qui, chimique à première vue, diffère pourtant des réactions chimiques ?

C'est là ce que dès les premiers temps de la découverte des diastases de nombreux chercheurs se sont efforcés d'établir. Les hypothèses pourtant étaient loin de concorder.

Il convient de distinguer, parmi celles qui ont été proposées, des explications *biologiques*, des explications *physiques* et des explications *chimiques*.

Ces dernières ont eu constamment la faveur de la plupart des biologistes, qui considèrent les cellules secrétant les diastases comme des sortes d'usines de produits chimiques. « Non seulement, dit Duclaux, » ces cellules sont des producteurs de diastases, » mais encore toutes leurs fonctions importantes, » même peut-être la production de leur matière » propre, sont des actions diastasiques, c'est-à-dire » chimiques, produites par l'influence de certaines » matières contenues dans la cellule et qui peuvent » en être séparées sans perdre leurs propriétés. Ce » que la cellule conserve, c'est le pouvoir de fabriquer » des diastases. »

Ainsi, ce qui fait le fond de la donnée exposée par Duclaux, c'est la notion d'actions *chimiques* ; toutefois les actions *physiques* se sont très tôt imposées à l'attention des chercheurs qui ont remarqué l'impossibilité d'expliquer tous les phénomènes diastasiques par des explications chimiques.

Mais dans la voie où l'on s'était engagé, on ne pouvait encore par les moyens physiques expliquer bien des points de l'action diastasique. Ainsi voulut-on faire intervenir un nouvel élément d'interprétation et comme on n'en découvrait pas dans le domaine des sciences physico-chimiques, on s'adressa à ce mode d'explication auquel on a recours si souvent pour masquer l'ignorance des phénomènes : on parla d'une faculté diastasique comme on avait parlé autrefois d'une force vitale pour expliquer diverses manifestations de l'activité des êtres vivants.

Mais s'il est facile d'expliquer un phénomène en

supposant à un corps une propriété capable par définition de donner tel résultat ; il n'en demeure pas moins que cette explication ne présente aucune valeur scientifique, et qu'il reste de nombreuses obscurités dans l'action des diastases.

Pour juger exactement ce qu'il en est de l'évolution des idées au sujet des zymases, il est nécessaire de rappeler rapidement leurs propriétés et ne noter comment elles ont été interprétées par divers auteurs.

« Ces diastases, dit Duclaux, accélèrent les actions » chimiques et leur permettent de s'accomplir dans » des milieux dont l'acidité ou l'alcalinité ne dépassent pas le niveau physiologique. » Et ainsi dans ces milieux, les diastases permettent l'exécution de modifications qui sans elles eussent demandé des masses considérables d'acide ou d'alcali et une température élevée que les organismes vivants seraient incapables de supporter. « Voilà la source de leur » importance, elles modifient la quantité du phénomène ; elles ne changent rien à sa qualité. » De plus, en agissant, les diastases ne se détruisent que très lentement, elles ne se combinent pas et restent intactes, l'action terminée.

Voilà défini le résultat et l'état des actions diastasiques ; que sont les détails ? C'est là que les divergences vont se manifester.

Dans les actions des diastases, nous voyons, à partir du début, l'activité du phénomène s'accroître jusqu'à un maximum, puis décroître ensuite ; rapides au début, elles s'endorment peu à peu.

A mesure qu'une quantité plus grande de la ma-

tière à modifier est transformée, on voit l'action diastasique se ralentir, comme si la quantité déjà transformée gênait la diastase dans son action.

D'autre part, une quantité initiale de matière transformable étant donnée, la diastase est indifférente à cette masse totale mais a égard seulement au rapport entre les masses transformées et à transformer, et si l'on prend par exemple des solutions contenant 10, 20 et 40 % de sucre sur lequel on fait agir de la sucrase, on voit en un même temps *la même masse* de sucre interverti, alors que si l'interversion avait été faite par un acide, les quantités interverties en un même temps eussent été *proportionnelles aux masses initiales*.

Il faut encore noter que si la quantité de sucrase agissant donne par exemple 5 gr. de sucre interverti en un temps donné dans une solution contenant 10, 20 ou 40 gr. de sucre, cette même quantité en donne moins dans une solution contenant 5 gr. Elle ne transformera pas ces 5 gr. intégralement ; il y a donc là encore, sous une autre forme, action de la proportionnalité entre les masses transformées et à transformer.

Si au lieu d'une interversion de sucre, nous avons affaire à une coagulation, les phénomènes sont les mêmes.

Le premier phénomène caractéristique à noter, c'est donc la loi de proportionnalité de Duclaux qui régit l'action des diastases par rapport aux quantités de matière transformées et à transformer.

En deuxième lieu un autre groupe de propriétés qu'il faut faire ressortir de suite parce qu'il nous

aidera plus tard à voir l'insuffisance des théories proposées, est celui qu'exprime ainsi Beaunis : « Les » ferments ont une certaine affinité pour les subs- » tances finement divisées et pour les précipités » floconneux comme le phosphate de chaux ; ces » substances peuvent les entraîner mécaniquement » et les précipiter de leurs solutions. »

Ils ont tous encore des propriétés bien connues ; une grande affinité pour l'oxygène, un affaiblissement marqué par un chauffage vers $+50^{\circ}$ ou $+60^{\circ}$, et atteignent définitivement la destruction vers $+70^{\circ}$. Desséchés et chauffés à $+100^{\circ}$ ils peuvent au contraire, lorsqu'on leur rend de l'eau, reprendre leur activité. Ils ne se détruisent pas dans leur action, nous l'avons déjà vu, et ce fait essentiel attira et frappa l'attention des premiers chercheurs de telle façon qu'ils partirent, de là surtout, pour établir leurs théories.

CHAPITRE II

LES THÉORIES

Si, dans son travail, la diastase ne se détruit pas, c'est, d'après *Duclaux*, parce que ses réactions se feraient avec un dégagement de chaleur, faible il est vrai, mais qui suffirait pour de telles réactions capables, une fois amorcées, de continuer indéfiniment.

A côté de cette hypothèse, certains ont, comme *Berzélius*, considéré qu'il s'agissait d'actions cataly-

tiques comme celle de la mousse de platine. *Berthelot*, *Frémy*, *Hoppe Seyler*, etc., pensent qu'il s'agit d'un acte purement chimique consistant en la propre transformation de la diastase pendant l'accomplissement même du travail qu'elle détermine, mais si la sécrétion de diastase est assez abondante pour en produire plus qu'il n'en est consommé (et c'est ce qui se passerait normalement) on peut isoler la diastase dans cet excès. Ailleurs *Duclaux* pense que les diastases permettant à des actions chimiques de s'accomplir, comme nous l'avons déjà vu, dans des conditions où sans leur aide elles ne le pourraient pas ; « par cela même nous sommes autorisés à les considérer comme des forces chimiques, liées comme toutes les autres à un certain groupement chimique encore inconnu mais qu'on découvrira. »

Hoppe Seyler ne distingue pas les ferments figurés des ferments solubles et semble confondre les premiers avec leur sécrétion.

Il partage les fermentations en deux groupes, dans les unes il y a fixation d'eau, dans les autres fixation de carbone et d'oxygène sur la substance considérée, ou au contraire enlèvement de l'une de ces trois substances aux corps auxquels elles étaient fixées.

Beaunis croit que le ferment n'agit que par une action comparable aux actions chimiques, comme un réactif chimique ordinaire.

Hammarsten pense que lorsque nous isolons un ferment nous avons en réalité scindé une combinaison chimique d'un albuminoïde et d'un ferment que diverses actions peuvent séparer l'un de l'autre.

Ainsi on aurait :

(albuminoïde + ferment) + acide = (albuminoïde + acide) + ferment

Certains, comme *Tiegel*, voyant que la plupart des tissus possèdent, comme les cellules isolées, le pouvoir fermentatif et ayant constaté ce pouvoir sur des tissus mourants, pensent que les fermentations sont des actes nécrobiotiques.

Si nous regardons de plus près les formes de fermentation qui nous intéressent dans ce travail : les coagulations et décoagulations, nous voyons Duclaux dire que la coagulation est un phénomène que présentent tant de substances « qu'on ne peut y voir » une conséquence de leur constitution chimique ».

Ainsi cet auteur voyait tout à l'heure dans les actes diastasiques en général des actes chimiques, ici la coagulation ne lui apparaît plus comme chimique. Je ne ferai que rappeler les explications qu'il donne alors. Leur exposé détaillé serait beaucoup trop long. Il indique ce qu'est une pseudo solution, montre la ressemblance entre l'expérience de Tyndall et celles de Pictet et Linden, fait voir que les adhésions moléculaires, dans certaines conditions, sont telles que l'on peut y rapporter les coagulations. L'eau distillée filtrant est immobilisée sur les parois du filtre, et, au milieu du manchon d'eau revêtant ainsi les parois, coule la veine liquide. La première est *comme* coagulée, la seconde est fluide, toutes deux ont même composition quoique à un état physique différent. De même le liquide coagulé ou non ne change pas de composition. Notons cette explication de Duclaux, elle nous intéressera plus tard.

Graham, au contraire, voit dans la coagulation des soudures chimiques, quoique ce n'ait jamais été

démonstré, et il en fait un phénomène analogue à la cristallisation.

Pictet et *Linden* comparent la coagulation, qui serait une fixation d'eau sur des albuminoïdes, à la fixation d' H^2S sur les hydrosulfures.

Mais nombreux sont les faits qui ne rentrent point dans le cadre de ces données et surtout les faits qu'il faudrait connaître de façon certaine pour pouvoir se servir de telles explications qui les font intervenir comme positifs ou négatifs alors que nous n'en sommes pas sûrs.

Non seulement en effet dans les hypothèses mais même dans certaines expériences se voient des contradictions qui arrêtent tout.

Voyons par exemple celles de *Hammarsten* sur la présure.

Les conclusions en sont que :

1° En l'absence de sels de chaux la présure ne coagule pas la caséine.

2° La présure prépare la caséine à se coaguler sous l'action des sels de chaux.

Voilà qui est bien clair et très net.

D'autre part, *Hammarsten* fait du lait artificiel avec de la présure en solution dans de l'eau de chaux additionnée de PO^4H^3 , et ce dernier élément apparaît nécessaire ; s'il existe dans la solution et qu'on ajoute de la présure il y a coagulation ; s'il est absent la présure toute seule ne provoque pas la coagulation.

Ensuite *Soxhlet* et *Söldner* montrent qu'il faut un sel de chaux soluble pour que la coagulation soit possible.

Puis ils font voir que les sels de chaux solubles peuvent coaguler tout seuls le lait.

Plus tard, on apprend que les sels solubles de Magnésie, les sels neutres alcalins, les sels alcalino terreux, les nitrates, les sulfates, etc., ont la même action.

Enfin on découvre que la présure toute seule coagule le lait en l'absence de tout sel de chaux.

Alors nous voyons toutes les données de Hammarsten détruites.

D'un autre côté, quelle hypothèse fait-on pour expliquer la coagulation ?

On dit : la caséine est un caséinate de chaux, sous une cause chimique dissociante, comme un acide, il y a scission et la caséine se précipite à l'état de caséine libre c'est-à-dire insoluble ou coagulée pendant que la chaux forme avec l'acide un sel calcique.

Mais en fait, la coagulation peut se produire sans changement dans la réaction du liquide et la caséine calcique, si elle existe, n'est alors pas décomposée.

Duclaux a montré que le lait coagulé et le lait non coagulé ont la même composition et que par conséquent il ne faut pas faire intervenir une notion de changement de réaction, du moins décelable, dans l'ensemble du liquide.

D'autre part, seules les solutions artificielles obtenues en saturant leur solution dans l'eau de chaux, par $\text{PO}^4 \text{H}^3$ sont coagulables. Le phosphate de chaux est donc nécessaire à la coagulation.

Arthus et *Pagès* font voir que si par le fluorure de potassium on chasse tout le calcium de la solution, il n'y a plus de coagulation.

Mais à côté de cela, nous venons de voir que *Soxhlet* et *Linden* ont vu la coagulation se faire en l'absence de toutes traces de chaux, que conclure ?

Et ailleurs encore les contradictions se marquent. Ainsi on a dit : l'acide chlorhydrique décompose la caséine calcique, mais ensuite on dit : les sels de chaux solubles sont nécessaires à la précipitation de la caséine, en particulier CaCl_2 . Alors avec les acides, les caséines calciques sont solubles, mais avec la présure elles sont insolubles. Or les uns et les autres coagulent le lait. Comment sortir de ce dilemme bien mis en lumière par *Duclaux* ?

Mais voyons encore quelques faits nécessaires à montrer dans cet historique, avant de passer à la critique.

Duclaux montre que tous les sels de calcium sont capables de coaguler tout seuls la caséine, que tous les sels neutres le font, que les acides agissent de même et que toutes leurs courbes de coagulation sont comparables entre elles et comparables à celle de la présure. Qu'est-ce à dire sinon que toutes ces actions sont analogues et que la présence ou l'absence de sels de chaux n'est qu'un adjuvant auquel tout autre pourrait être substitué. Là encore la différence est dans la quantité, non dans la nature du phénomène.

Et une autre coagulation nous fournit les mêmes variations dans l'évolution historique des idées à son sujet : celle du sang. Tous les anciens auteurs, les *Gautier*, les *Brück*, *Hammarsten* lui-même pensent que la chaux est un élément essentiel de la coagulation, *Arthus* et *Pagès* en 1890 le montrent encore, et pourtant *Hammarsten* avait fait voir que par de la plamase décalcifiée « on obtient une

» formation tout à fait typique de fibrine en l'absence
» de tout sel de calcium précipitable par les
» oxalates ».

Et *Peckelharing* conclut que la présence d'un sel de chaux n'est pas nécessaire pour la coagulation.

Nous prendrions maintenant tous les noms de ceux qui ont fait œuvre dans l'étude de la coagulation que notre énumération n'aurait aucun intérêt. Tous ont plus ou moins cherché des théories très voisines les unes des autres et toutes chimiques. Nous allons bientôt voir l'insuffisance de telles théories.

Si en effet nous observons ce qui a été dit relativement à la composition du sang, nous voyons que *A. Schmidt* considère la coagulation du sang comme due à la cessation de l'action ozonisante des globules rouges, action qui pendant la vie se traduirait par une dissolution constante de la fibrine. Donc interprétation chimique. Mais plus encore il pense que le fibrine ferment produit par les globules blancs lors de leur mort actionnerait la coagulation qui sans lui ne pourrait se produire, et l'on aurait encore une réaction chimique ou plutôt physico-chimique de fixation : fibrinogène + paraglobuline + fibrine ferment = Fibrine.

Denis avait antérieurement émis une théorie d'après laquelle l'action était la suivante : fibrine soluble + fibrine concrète = plasmine ; mais il n'expliquait point par quel processus la plasmine perdant sa fibrine soluble abandonnerait la fibrine concrète, ce n'est donc pas une explication valable ?

Hammarsten, Mathieu et Urbain, Eschwald, Heynsius, font intervenir l'action de CO_2 qui par des

fixations diverses d'ordre chimique provoquerait la coagulation ; le ferment ne compte presque pas pour eux, les globules rouges ont une grande importance par ce qu'ils sont vecteurs d'O ou de CO².

Brücke le premier songe à l'acide phosphorique, mais il ne voit pas à quel état il est dans le sang et le croit, contrairement à ce que nous verrons plus loin, à l'état de sel soluble. Pour le reste il penche vers la théorie de A. Schmidt.

Lussana voit dans la fibrine un produit de désintégration des tissus et fait des dosages intéressants, mais conclut toujours à des données chimiques.

Enfin *Hayem* et *Bizzozero* donnent chacun une théorie où le rôle des plaquettes et des hémato blasts devient considérable, ils en font les centres à partir desquels va se faire la coagulation ; mais ils négligent trop de tenir compte de l'action du fibrine ferment et des leucocytes bien vus par Hammarsten et Schmidt.

Dastre, *Arthus*, *Arthus* et *Pagès* montrent les uns et les autres que les théories de leurs devanciers sont insuffisantes. *Dastre* fait voir que les leucocytes ne meurent pas dans la coagulation, les autres essayent de nouvelles théories toujours chimiques et en résumé toutes ces théories sauf celles de *Hayem* et de *Bizzozero* sont à peu près exclusivement chimiques et font jouer un grand rôle à l'action de combinaisons diverses de la fibrine, qui, nous le verrons, ne peuvent nous donner satisfaction.

L'histoire enfin de la Pepsine va nous laisser dans le même vague.

Wasman et *Payen* la découvrent, puis *Hammarsten* la prépare en 1872 et en commence l'étude. *Von Wittich* voit que plus la proportion de pepsine est forte (jusqu'à une certaine limite) plus la rapidité de la liquéfaction de l'albuminoïde soumis à la digestion pepsique est grande, il voit que pendant la digestion, une petite quantité de pepsine est consommée et sur cette faible consommation vont se baser des théories déjà indiquées plus haut, considérant la sécrétion totale de pepsine comme plus grande que ce que nous voyons et partiellement détruite par une action diastasique de nature chimique.

Grützner voit que la pepsine ne coagule pas les albuminoïdes liquides mais ceux-ci ne sont pas à l'état dissous vrai et elle ne les dissout complètement qu'après un temps préalable qui représente la durée de la digestion.

Zuntz et *Pfaundler* montrent quelles sont les phases de la digestion pepsique.

Schütz fait voir que la loi des proportions est bien valable pour la pepsine. Mais aucun ne cherche à donner une explication de l'action zymasique en elle-même.

Schiff, *Ebstein*, *Grützner*, *Langlois*, *Gloesner* mettent en lumière des proferments, des proenzymes, mais ils y voient toujours des agents chimiques et ne nous donnent que des explications chimiques sur leur action.

Ces explications ne peuvent nous satisfaire et nous serons obligés de chercher plus loin ; elles laissent en effet dans l'ombre, comme celles qui les ont pré-

cédées, comme plusieurs de celles qui leur sont contemporaines, nombre de faits qu'il convient maintenant d'exposer.

CRITIQUE DES HYPOTHÈSES ET THÉORIES ANCIENNES EXPOSÉ DES THÉORIES RÉCENTES.

CHAPITRE I

THÉORIES ANCIENNES

Les hypothèses dans lesquelles on considère les ferments comme agissant d'une façon analogue à la mousse de platine, par une action catalytique, laissent dès l'abord beaucoup d'obscurité, car nous savons que, si minime que soit l'usure du ferment, elle n'est pas moins réelle et que par conséquent, pour une raison qui nous échappe, le ferment laisse dans la réaction une partie de lui-même. Si même la durée d'action est suffisante, on voit le ferment finir par disparaître. Or la mousse de platine ne se comporte point ainsi et condense de l'hydrogène sans éprouver d'usure, quelle que soit la durée pendant laquelle elle agit.

D'un autre côté, cette explication par action catalytique paraît insuffisante, car la loi des proportions de Duclaux ne se trouve explicable d'aucune façon dans cette hypothèse. Si la diastase agissait comme catalyseur elle devrait agir comme le font les acides qui sont eux vraiment et certainement des catalyseurs. La loi de proportionnalité ne se trouve pas vérifiée pour eux, elle ne le devrait pas être pour les diastases.

Ainsi prenons un acide, d'après les conditions que nous avons vues plus haut, nous savons que quelle que soit la quantité initiale de matière à

transformer, la quantité transformée dans un temps donné par une masse d'acide donnée sera proportionnelle à cette masse, de sorte que l'on aura toujours :

$$M = m T$$

équation dans laquelle M est la masse de matière à transformer, m la masse d'acide, T le temps.

A un moment quelconque de la réaction on aura :

$$M - M' = m (T - T')$$

M' étant la quantité déjà transformée et T' le temps employé pour transformer cette quantité.

Quand M et M' seront égaux, T et T' le seront aussi et on aura :

$$0 = m \cdot 0$$

c'est-à-dire que la réaction aura pris fin.

Or pour la diastase què se passe-t-il ?

L'expérience nous montre qu'il y a proportionnalité entre la quantité de diastase, la quantité initiale de matière soumise à la diastase et la quantité transformée en un temps donné, c'est-à-dire que là encore :

$$M = m T$$

mais que à un moment quelconque de la réaction on aura :

$$M - M' = m (T - T') \quad M$$

$$\text{ou } \frac{M - M'}{M} = m (T - T')$$

Alors qu'avec l'acide, au moment où $T = T'$, on avait $M = M'$ quelle que soit la valeur de M puisque $M - M' = m (T - T')$ et dans le même temps la même quantité de matière transformée, ici au contraire, si M croît, nous voyons croître la valeur de $\frac{M - M'}{M}$ bien plus rapidement que celle de T .

Avec l'acide, M et T croissent et décroissent parallèlement et l'on a

$$M - M' = m (T - T')$$

mais, avec la diastase, la valeur devient

$$\frac{M - M'}{M} = m (T - T')$$

ou bien

$$\frac{M - M'}{M m} = T - T'$$

ce qui nous montre que le temps $T - T'$ est inversement proportionnel à M, et que si M croît, $T - T'$ décroît. Il en résulte une différence fondamentale entre l'action des diastases et celle des acides et on voit que dans un temps donné la quantité de matière transformée est plus grande à mesure que croît la masse initiale.

C'est là un point tout à fait différent de ce que nous voyons avec les acides.

Et si à côté des théories catalytiques nous observons les théories chimiques, nous voyons toujours les diastases considérées comme agissant à la façon d'un réactif quelconque ordinaire.

On oublie ainsi ce grand caractère qu'elles ont toutes d'agir en masse extrêmement faible sur de grandes quantités de matière. Pour obvier à cet inconvénient, on fait alors une étrange hypothèse qui consiste à supposer que la diastase est secrétée plus abondamment qu'elle n'est utilisée, hypothèse entièrement gratuite ne reposant sur aucune cons

tation expérimentale et en contradiction avec les faits observés *in vitro*. Une diastase en effet agissant *in vitro* n'est pas secrétée au moment de son action, or cette action est aussi nette que *in vivo* et se produit dans les mêmes conditions.

Voilà donc une première difficulté pour admettre l'action chimique des diastases.

Mais nous savons que la diastase s'use dans son travail ; il va falloir alors supposer que cette usure d'une minime quantité correspond au travail fourni et que sous une très petite masse la diastase représente une quantité considérable d'énergie.

Sans doute c'est bien là ce que nous constatons, mais cette grande quantité d'énergie peut-elle être considérée comme d'ordre chimique ? Pour cela il faudrait qu'elle correspondît à une quantité de chaleur dégagée considérable pendant la réaction ; or nous savons que la température à laquelle se produit l'action de la pepsine ne dépasse pas $+38^{\circ}$ à $+39^{\circ}$ et que cette température n'est pas produite par la réaction, mais qu'elle est au contraire nécessaire à cette réaction. Toutefois nous savons que les actions diastasiques sont légèrement exothermiques, et Duclaux dit qu'il suffit que la réaction soit commencée pour qu'elle se continue de proche en proche ; une minime quantité d'énergie suffit à la mettre en marche et alors, de même qu'une petite amorce fait éclater une masse énorme de dynamite, de même une faible énergie déclenchera la réaction diastasique. En fait, cette comparaison est peut-être difficile à accepter, car si l'explosif réagit sous une minime excitation, c'est qu'il

présente un potentiel considérable que met en mouvement l'excitation de début. Pour la diastase, il n'en saurait être de même que si nous pouvions constater qu'elle aussi est un élément représentant une réserve considérable de potentiel. Or l'explosif se détruit immédiatement dans son action (phénomène chimique) alors que la diastase ne se détruit pas ou ne se détruit que dans des conditions de lenteur qui ne permettent point de la comparer aux explosifs, ni d'équivaloir la quantité de chaleur qui peut être libérée dans cette destruction au travail fourni. L'explosif dégage dans sa destruction une grande quantité d'énergie ; or pour que la diastase fût considérée comme agissant chimiquement il faudrait qu'elle dégageât, en se détruisant, une quantité de chaleur égale à celle que nous devons employer pour accomplir des actions semblables à celles qu'elle produit, et qu'elle la dégageât en un temps aussi court que celui qu'elle emploie pour achever son action. Or nous savons qu'il n'en est rien, nous avons donc une nouvelle raison pour ne pas accepter l'explication chimique.

Voyons maintenant ce que peut valoir pour la coagulation du lait une explication de cet ordre.

Nous avons vu par exemple l'hypothèse d'Hammarsten sur l'action des sels de Ca et il nous est apparu nettement que cette hypothèse se trouvait en contradiction avec les faits. Et si conservant la notion établie dans la coagulation par les acides, nous voulons supposer que le lab coagule le lait par action chimique il nous faut considérer que si l'on a :

Caséine calcique + acide = Caséine + sel calcique

alors on a aussi

Caséine calcique + lab = caséine + lab calcique

Or cette deuxième équation ne donne en aucune façon l'expression de la réalité, il n'y a jamais eu de combinaison lab calcique constatée.

Supposons au contraire l'hypothèse dans laquelle la caséine calcique est insoluble, alors nous ne pouvons plus comprendre la coagulation par acide car il faudrait avoir

caséine + acide + sel calcique = caséine calcique + acide + autre acide

Or ce fait n'a jamais non plus été constaté.

De plus ces deux hypothèses sont en contradiction absolue entre elles car il faut que l'une ou l'autre soit vraie, si l'on tient à l'explication chimique ; et faut-il dire que la caséine calcique est soluble ou insoluble ? C'est là ce que nous ne pouvons savoir.

Sans vouloir donc rejeter systématiquement les explications chimiques, nous sommes bien obligés de reconnaître qu'elles sont d'une obscurité fort grande et ne donnent aucune conclusion satisfaisante.

CHAPITRE II

THÉORIES RÉCENTES

Nous venons de voir que pas plus la physique pure que la chimie ou que les hypothèses vitalistes ne nous donnent entière satisfaction. Mais dans d'autres voies encore il était possible de chercher ! Aussi des travaux divers ont été entrepris dans ce sens. Du côté mécanique, par exemple, *Béchamp* et *Estor* exposèrent en 1881 une théorie prenant pour base l'observation de certains éléments

microscopiques que ces auteurs étudièrent sur de nombreuses substances. En voici un bref exposé qui en sera en même temps la critique.

Béchamp constate dans la craie, la présence de fines particules mobiles et très nombreuses, leur mouvement est un mouvement brownien et leur taille extrêmement réduite.

Puis, ces mêmes granulations, il les retrouve, non seulement dans la craie, mais dans les diverses formations géologiques où ont habité des êtres vivants.

Il continue ses recherches et il retrouve encore ces grains dans les êtres organisés. Avec lui *Estor* voit que toutes les cellules vivantes sont garnies, bourrées de ces granulations mobiles et que non seulement les cellules, *mais leurs produits de sécrétion* en sont formées.

Les microbes leur apparaissent aussi constitués de même et certains d'entre eux sont identifiés à des granulations simples. Ces grains visibles aussi en grande abondance dans les liquides diastasiques, ils les nommèrent microzymas et, d'expériences diverses, conclurent que « l'animal est réductible au microzyma ».

Malheureusement ils allèrent trop loin en voulant identifier le microzyma et le microbe et furent combattus avec succès par *Roux* et *Chamberland*.

D'autre part, de leurs constatations, ils ne tirèrent pas de théories nouvelles. Là encore on revenait sur des propositions physiques et l'on faisait du microzyma un élément catalyseur qui se trouvait au milieu de tous les éléments où une action zymasi

que se manifestait, aussi bien dans les cellules que dans les liquides diastasiques. C'était, sous une forme nouvelle, un principe ancien.

Enfin plus près de nous vient de paraître, et fort intéressante celle là, une théorie formulée par *A. Aggazzotti*, dont je n'ai rien dit qu'un mot dans l'historique, parce qu'elle n'est plus du corps des anciennes théories.

Aggazzotti a étudié à l'ultramicroscope des digestions d'amidon par la salive, par le suc pancréatique, des digestions d'ovalbumine par la pepsine et la papaïne et il a trouvé des caractères fort curieux relatifs au passage de l'amidon à la dextrine et de l'ovalbumine à la syntonine ; comme caractères optiques il observe sur quelques points à peu près exactement ce que j'ai observé moi-même et que l'on verra plus loin décrit, comme la luminosité du ferment, l'accélération des mouvements au début de la digestion, le fait que les grains se groupent, la destruction des amas de grains ; mais en tout cela il ne décrit pas le mécanisme.

Or de toutes ses observations, il conclut que dans les processus fermentatifs, les ferments agissent comme catalyseurs très spéciaux neutralisant par leurs propres charges électriques celles des albuminoïdes, et provoquant leur coagulation par groupement d'éléments de signe contraire. Quant à l'action accélérante des ferments elle serait due à ce qu'ils provoquent par ce mécanisme une plus précise orientation de la matière à digérer.

Cette explication, certes possible, et dont même une partie sera acceptée par nous en ce qui concerne la cause du mouvement des grains, n'est ce-

pendant pas entièrement satisfaisante car elle ne fait que reculer la difficulté, elle ne nous dit pas pourquoi le ferment neutralisant les charges électriques des albuminoïdes ne s'immobilise pas lui-même avec eux. Aussi ne pourrions-nous pas encore nous en contenter.

Si maintenant nous résumons brièvement ce qui peut être objecté aux diverses formes d'explications proposées jusqu'à présent — ou plutôt jusqu'à M. R. Dubois — sur les actions diastasiques, nous dirons que les explications biologiques étant mises de côté, qui expliquant un phénomène par la force vitale ne l'expliquent pas du tout, il nous reste des explications *physiques, chimiques et mécaniques*.

Les explications *physiques* pures, nous l'avons vu, ne donnent pas entière satisfaction car toutes celles proposées se ramènent à une théorie catalytique et, en fait, les diastases n'ont pas les propriétés et ne présentent pas les caractères des catalyseurs.

Les explications *chimiques* suscitent une foule de contradictions, d'impossibilités, de notions en lutte avec les caractères d'action des diastases.

Enfin les explications *mécaniques* ou *physico-mécaniques* dont on pouvait espérer qu'elles donneraient quelque indication, comme on espère toujours qu'une voie inexplorée permettra d'atteindre le but cherché, ont à peine été effleurées par Béchamp et Estor qui même n'ont point dirigé leurs travaux dans le sens qui semblait s'ouvrir à eux.

Mais en face de toutes ces théories, nous voyons M. le P^r R. Dubois montrer des faits. Dans les cellules, il fait voir des grains fins qui sont les va-

cuolides, grains à volume variable et dont la variation est due à une dialyse ; ces grains, il les retrouve dans de nombreux ferments, il les retrouve dans les organes photogènes des élatérides lumineux ; il les voit en outre se mouvoir et pense que ce mouvement provoque une action de brassage dans le milieu où agit le ferment, brassage dont il ne définit pas en détail l'action mais qui apparaît dès lors comme une expression mécanique des phénomènes diastasiques.

Voici d'ailleurs ce qu'il en dit lui-même dans une note à la Société de Biologie :

« En 1887 j'ai employé pour la première fois ce
» vocable de vacuolide pour désigner des corpus-
» cules arrondis que j'avais observés dans l'eau de
» mer phosphorescente du port de Menton et dans
» les produits de dissociation de divers cténophores
» lumineux. J'avais déjà vu et signalé en 1886 des
» corpuscules de même ordre dans les organes de
» sécrétion interne photogène du pyrophore et du
» lampyre, où ils deviennent surtout apparents au
» moment du fonctionnement lumineux. C'est éga-
» lement à leur apparition, due à un changement de
» l'équilibre normal provoqué par une excitation que
» les cellules de l'ectoderme d'*Hippopodius gleba*
» deviennent simultanément opalescentes et lumi-
» neuses, comme je l'ai montré depuis longtemps.
» Ces vacuolides sont faciles à observer dans les
» organes lumineux du *Phyllirhoë* bucéphale, ainsi
» que je l'ai fait constater par M. Lée, au Laboratoire
» de Villefranche-sur-Mer, en 1887. D'ordinaire, elles
» sont caractérisées par ce fait que la partie péri-
» phérique est plus dense que la partie centrale qui,

» de cette façon, représente une vacuole. Dans
» certaines vacuolides, la vacuole peut n'être pas
» visible ; elle le devient dans l'eau pure surtout si
» celle-ci est alcalinisée ; ses dimensions augmen-
» tent peu à peu et finalement la vacuolide ressemble
» à une gouttelette homogène...

» J'ai insisté plus tard sur la naissance et l'évolu-
» tion des vacuolides dans mon ouvrage sur la
» pholade dactyle (Ann. de l'Univ. de Lyon 1892,
» p. 139-140, p^l XIII et p^l XV) où je les ai figurées,
» ainsi que dans plusieurs autres publications,
» particulièrement dans mes *Leçons de physiologie*
» *générale et comparée* à propos de la Biophotogénèse.

» Chemin faisant, je me suis aperçu que les vacuo-
» lides se rencontraient autre part que chez les
» organismes lumineux et qu'elles étaient partie
» constituante du bioprotéon ou matière vivante.

» Mes recherches sur la biophotogénèse m'avaient
» en outre conduit à cette conception que, si les
» vacuolides ont morphologiquement toujours la
» même structure fondamentale, elles n'ont pas
» toutes les mêmes fonctions et que c'est précisé-
» ment ce qui explique la diversité des phénomènes
» d'assimilation et de désassimilation s'effectuant
» simultanément dans une même cellule. D'ailleurs
» la forme vacuolaire me paraît être celle qu'affec-
» tent les ferments dits *solubles* ou zymases dans
» leur pseudo solutions, et d'une manière générale
» tous les colloïdes : les vacuolides sont, à mon
» avis, comparables aux *cellules mousseuses ou*
» *écumeuses*. On admet aujourd'hui que dans les
» solutions salines aqueuses, il se forme des élé-

» ments ayant des parties denses, de consistance
» huileuse et des parties moins denses plus riches
» en eau. Ces éléments sont le point de départ des
» formations de cristaux au moment de la cristalli-
» sation, ce qui est aussi le cas de certaines
» vacuolides animales.

» En résumé, ma conception des vacuolides et de
» leur fonctionnement est la suivante :

» Comme dans les solutions ces éléments se
» touchent et comme ils présentent une superficie
» totale considérable, il doit résulter de leur contact
» réciproque des tensions superficielles énormes,
» capables, avec les variations des liquides qui les
» baignent de produire des manifestations énergéti-
» que très grandes, En raison même de leur struc-
» ture, les vacuolides sont le siège de phénomènes
» osmotiques auxquels viennent s'ajouter les forces
» de diffusion, les énergies ioniques, etc. ; et tout
» cela est susceptible de variations intenses sous les
» plus faibles influences : un ébranlement, une
» petite variation de température, surtout un chan-
» gement dans l'état d'équilibre d'hydratation du
» milieu et des éléments ; les vacuolides doivent
» même être susceptibles de réversibilité comme
» certaines zymases. »

Et il dit encore en 1892 dans ses Leçons de Physiologie :

« Nous pouvons admettre que les zymases sont
» des corpuscules infiniment petits peu ou pas visi-
» bles à l'aide de nos microscopes encore bien im-
» parfaits et animés de mouvements empruntés au
» bioprotéon dont elles dérivent. Ces mouvements

» ondulatoires, vibratoires, comme les autres, mais
» ayant un rythme et une amplitude spéciale, bio-
» protéonique ou vitale, sont capables de créer une
» agitation, un *brassage* également spécial dans les
» molécules, d'où résulteraient des hydratations,
» des oxydations, des dédoublements ne pouvant
» se faire autrement que dans les conditions que
» j'ai signalées. Ces modalités de mouvements
» doivent alors varier avec chaque zymase, nette-
ment différenciée par les effets qu'elle produit. »

M. le Prof^r R. Dubois a mis en lumière une action physique autre que la catalyse : une *dialyse* dans le milieu ambiant et fait voir la possibilité du rôle d'une action mécanique : le *brassage*.

Dès longtemps d'ailleurs on savait que l'agitation active les fermentations. Dès longtemps aussi on savait que les ferments se fixent volontiers aux précipités floconneux et les vacuolides libres de M. le P^r R. Dubois offrent cette propriété. On pouvait donc dès lors penser que les ferments étaient constitués au moins en partie par des vacuolides et que leur action était représentée par une *dialyse* et un *brassage*.

La première de ces deux actions. M. le P^r R. Dubois qui l'a découverte, l'a mise entièrement en lumière, mais la seconde demandait à être étudiée, expliquée, il fallait voir quel rôle elle jouait dans les actes fermentatifs, c'est ce que j'ai tenté de faire pour un groupe de fermentations ; les coagulations et décoagulations, parmi lesquelles j'ai pris pour types la coagulation du lait et celle du sang et la digestion de l'ovalbumine.

RECHERCHES SUR LES CARACTÈRES PHYSIQUES, MICROSCOPIQUES ET ULTRAMICROSCOPIQUES DES GRANULATIONS ZYMASIQUES COMPARÉES AUX AUX AUTRES GRANULATIONS COLLOIDALES.

CHAPITRE I

PROCÉDÉ DE RECHERCHES & MÉTHODE EMPLOYÉE

Je me propose, dans ce travail, un double but bien délimité, bien défini. J'ai en vue d'une part la description précise des caractères de certains éléments du lab, de la pepsine et de la plasmase, permettant d'apporter, grâce à un mode d'investigation spécial, des faits nouveaux en faveur de théories que M. le Professeur Raphaël Dubois (1) a déjà depuis longtemps énoncées et d'autre part la détermination précise de points que j'ai énoncés moi-même (2) relativement à ce mode d'investigation et sur lesquels diverses contestations ont été formulées. Ces contestations ont d'ailleurs été faites avec la plus extrême amabilité, et je remercie leurs auteurs de n'avoir ainsi fourni le moyen de préciser davantage mes expériences.

Mon but est limité à ces deux données et je ne veux point établir de théorie qui pourrait aller plus loin que ma pensée. Je me contenterai de faire ressortir

(1) Leçons de physiologie générale et comparée.

(2) Etudes sur la constitution ultramicroscopique du protoplasma — Lyon — Ass. Typ. ; 1910.

Le leucocyte humain — Soc. Med. Hop. Lyon — 1910.

l'appoint que mes expériences peuvent jusqu'à un certain point fournir aux théories de mon maître M. le Professeur Raphael Dubois.

L'appareil dont je me suis servi dans toutes mes expériences exposées présentement ou dans des publications antérieures sur le lait, les leucocytes, le protoplasma, etc... ; et faites sous le titre d'ultramicroscopie, est non pas l'ultramicroscope de Siedentopf et Zsigmondy, mais celui fabriqué par la maison Leitz de Wetzlar et dit « Kondensor für Dunkelfeldbeleuchtung ». Cet appareil est communément désigné sous le nom d'ultramicroscope de Leitz, j'ai donc simplement conservé un nom consacré par l'usage.

J'ai décrit ce que je voyais avec cet appareil, et il convient de ne pas confondre les particules que je décris avec ce que les physiciens décrivent sous le nom de particules ultramicroscopiques ; en effet, parmi les points brillants que je distingue avec cet appareil, il en est certes qui sont au-dessous de la limite de visibilité du microscope ordinaire, et celles-là sont des particules ultramicroscopiques, mais ce sont *les plus grosses* parmi celles que montrerait l'appareil de Siedentopf et Zsigmondy. Au contraire, la majorité d'entre elles sont, quoique extrêmement fines, encore microscopiques, mais, alors que, à cause de cette finesse, leur étude est sinon impossible, du moins extrêmement difficile au microscope ordinaire, elle devient d'une extrême facilité avec l'ultramicroscope de Leitz. C'est donc simplement la description des particules visibles avec cet appareil que j'ai entrepris et sans préjuger de leurs dimensions.

Je pense m'être maintenant assez clairement exprimé pour que le doute ne soit pas permis et qu'il soit évident que je me sers des mots ultramicroscope et ultramicroscopique dans un sens bien défini, l'appliquant à l'appareil de Leitz et à ce qu'il permet de voir.

Ces considérations de début tout à fait nécessaires, étant exprimées, je vais exposer ma méthode d'expérimentation.

J'ai employé dans toutes les recherches que j'ai faites au moyen de l'ultra microscope de Leitz, aussi bien dans celles exposées ici et relatives aux colloïdes libres que dans celles précédemment publiées et relatives aux cellules, une méthode fixe et qui doit être exposée nettement.

Je peux examiner soit des préparations destinées à être conservées un certain temps, et que par suite il faut protéger, soit des préparations vraiment extemporanées et n'ayant aucun besoin d'être protégées. Les premières sont recouvertes d'une lamelle, les secondes sont à l'air libre ; c'est-à-dire que dans le premier cas, je place sur la goutte de liquide à étudier une lamelle ordinaire et que sur cette lamelle je mets une goutte d'huile de cèdre pour immerger la lentille frontale de l'objectif du microscope, dans le second cas j'immerge directement l'objectif *dans le liquide d'étude*.

Quels sont les détails d'éclairage, de centrage, de dispositifs divers nécessaires pour éclairer les préparations ainsi faites, cela a été décrit fort bien par M. le Dr Gastou, j'en ai donné moi-même une description (1) ; je me contenterai de rappeler très briè-

vement qu'il faut disposer d'une source éclairante puissante ; lampe à arc de 6 à 8 ampères ou mieux lumière solaire, devant cette source lumineuse, on place un ballon rempli d'une solution d'alun absorbant les rayons calorifiques et enfin on adapte à un microscope ordinaire le Kondensor für Dunkelfeld beleuchtung de Leitz. Les figures ci-contre donnent une idée du dispositif employé.

Mais il ne suffit pas d'indiquer cette technique générale et nous allons voir comment il convient de procéder dans certains cas particuliers.

A). — Préparations protégées

Je ne vais m'occuper ici que des préparations spéciales aux pseudo-solutions, celles relatives aux cellules ne nous intéressant pas pour le moment.

Toute préparation d'une pseudo-solution destinée à l'observation ultra-microscopique doit présenter les caractères suivants :

1° Elle doit être faite en milieu parfaitement aseptique de manière à ne pas contenir de microbes, dont les mouvements et la luminosité pourraient troubler l'observation.

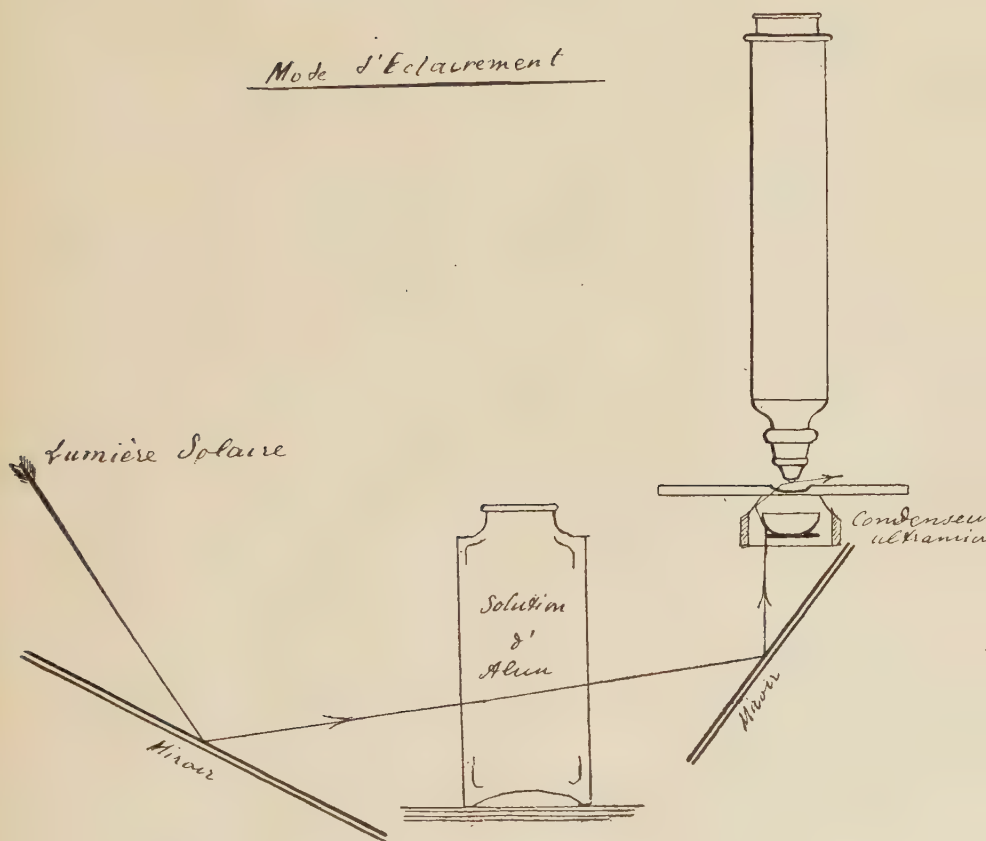
2° Elle doit être assez peu concentrée pour que les grains qu'elle contient ne diffusent pas de la lumière les uns sur les autres et ne se trouvent pas ainsi entourés d'un halo donnant une teinte laiteuse et opalescente au fond de la préparation, ce qui gêne la visibilité.

3° Son asepticité doit être obtenue par des procédés autres que la chaleur, car, si l'on a affaire à des

(1) Thèse de Médecine, Lyon 1910.

Planche I

Mode d'Eclaircissement



diastases, zymases, ferments divers, ceux-ci seraient détruits ou modifiés et ne conserveraient plus, comme nous le verrons plus loin, leurs caractères ultra-microscopiques.

Ces conditions réalisées, on prélève dans la solution préparée et conservée aseptiquement, une quantité minime de liquide.

Ce prélèvement se fait au moyen d'une pipette de bactériologie et dans les mêmes conditions qu'un prélèvement de culture.

Cela fait, on dépose sur une lame de 1^m/_m d'épaisseur une goutte de liquide, on la recouvre d'une lamelle et on observe soit avec immersion d'huile, soit à sec ; le premier procédé étant de beaucoup préférable.

Pour les détails de technique d'éclairage, il suffit de se reporter à ce que j'ai dit plus haut.

Mais cette préparation une fois faite, est destinée à être conservée plus ou moins longtemps, il va falloir la protéger contre l'évaporation, les glissements de la lamelle, les divers accidents qui pourraient survenir.

Le mieux dans ce but est de la luter non à la paraffine, mais à la cire rouge qui donne une fixation très satisfaisante.

Ces préparations sont alors indéfiniment utilisables.

Il n'en est pas de même de celles que je vais décrire maintenant, qui sont dépourvues de protection, mais présentent l'avantage d'être faites très rapidement et de pouvoir se renouveler un grand nombre de fois dans une même séance.

B). — Préparations non protégées

J'en ai employé de deux sortes : les unes avec lamelle, les autres sans lamelle, avec immersion de l'objectif dans le liquide étudié.

La préparation non protégée avec lamelle est simplement constituée par une lame portant une goutte du liquide à étudier et revêtue d'une lamelle, l'examen se fait directement avec ou sans immersion.

La préparation sans lamelle est bien différente de celles étudiées plus haut. On prend une lame à concavité, dans la concavité on dépose quelques gouttes du liquide à étudier et l'on descend progressivement l'objectif jusqu'à ce qu'il *plonge dans le liquide*. Ce procédé permet une grande rapidité de préparation, une grande facilité d'observation à divers niveaux et à diverses hauteurs dans le liquide, mais il doit être soigneusement tenu compte de ce que, malgré la quantité relativement forte de liquide employée, l'évaporation qui se produit à la surface n'est pas négligeable, quoique minime.

C). — Résultats généraux

Les pseudo solutions naturelles de colloïdes existant dans l'organisme, telles que le sérum sanguin ou lymphatique, les liquides péritonéal, pleural, de la vaginale, synovial, péricardique, céphalo-rachidien, la lymphe de la chambre antérieure de l'œil, le lait, le suc gastrique, la salive, le suc intestinal, la bile filtrés, se présentent, quel que soit, parmi les modes de préparation indiquées plus haut, celui que l'on choisisse, comme constitués par un milieu liquide sombre où se meuvent des particules claires plus

ou moins mobiles, plus ou moins scintillantes, plus ou moins lumineuses, plus ou moins volumineuses suivant le liquide considéré.

Il est préférable pour juger nettement des différences que je vais décrire plus loin entre les différents liquides, d'employer des préparations non protégées, sans lamelles, il semble que l'on ait ainsi une intensité lumineuse plus considérable qu'avec les autres procédés.

On obtient alors des aspects pour la plupart typiques sinon dans le délai, du moins dans l'ensemble et permettant de reconnaître assez facilement, avec quelque habitude, à quel groupe de liquides types de l'organisme on a à faire. Il ne s'agit pas bien entendu d'un mode de différenciation absolu, d'un procédé comparable aux procédés de l'analyse chimique, mais d'un moyen de différenciation d'un liquide défini du milieu intérieur par rapport à un autre du milieu extérieur ou bien d'un liquide par rapport à deux ou trois autres : par exemple du lait par rapport au sang, à la lymphe et au suc gastrique.

Le but de cet étude, d'ailleurs, ne va même pas si loin, puisque je me propose d'observer simplement l'aspect des phénomènes diastatiques chez trois des liquides de l'organisme en particulier et indépendamment des autres, et que c'est essentiellement en vue de la description exacte des caractères des diastases agissant sur ces liquides qu'a été fait ce travail.

Je tenais néanmoins à noter dès à présent cette notion de possibilité de différenciation dont l'utilité ressortira bientôt.

CHAPITRE II

CARACTÈRES DE LIQUIDES DU MILIEU INTÉRIEUR*A). — CARACTÈRES de la LYMPHE et des LIQUIDES LYMPHATIQUES*

Des quatre ordre de liquides types dont je veux faire l'étude, les plus essentiels à l'organisme animal, les plus généralement répandus, ceux dont les caractères sont les plus constants dans la série animale, sont les liquides constituant le milieu intérieur, c'est-à-dire la lymphe et ses divers dérivés : les liquides des séreuses et des diverses cavités analogues : plèvre, péritoine, synoviales, tunique vaginale, chambre antérieure de l'œil.

Je commencerai donc cette étude par celles des liquides lymphatiques.

Ces liquides nous offrent à observer à l'ultramicroscope des grains lumineux se détachant sur un fond sombre, grains mobiles dont les caractères sont nettement distincts suivant les éléments auxquels on a à faire, et dont il y a lieu de faire une sorte de classification.

1° Grains à niveau constant

Ils se présentent comme s'ils se déplaçaient en offrant toujours la même face à l'observateur. On les prendrait pour des disques posés à plat sur la surface d'une eau tranquille que seules quelques ondes agiteraient continuellement.

2° Grains à niveau variable

Ce sont des grains qui semblent plonger à diverses profondeurs en s'inclinant de diverses façons. On

pourrait les comparer à un poisson qui, effrayé dans un bocal, s'agite en tous sens, monte, descend et change constamment de niveau et de plan soit en profondeur soit en direction.

Un deuxième groupement se fera suivant la rapidité ou la lenteur des mouvements.

1° Grains rapides

Ces grains se déplacent parfois sur peu d'étendue, mais leurs mouvements se succèdent avec une très grande vitesse.

2° Grains lents

Ces grains peuvent parfois parcourir de grands espaces, mais ces déplacements se font avec peu de rapidité.

Un troisième mode de différenciation reposera sur le scintillement ou l'uniformité de la lumière.

3° Grains scintillants

Ils donnent l'impression d'un phare à feu tournant dont les éclipses seraient très rapides. A un instant donné on voit une clarté intense, un rayon lumineux se montre, puisque extinction survient, un nouvel éclaircissement et ainsi de suite. Il y a souvent une sorte de phase que le graphique ci-dessous permet de saisir. Les traits noirs figurent les durées d'éclairements, les espaces blancs, l'absence de lumière.



On voit que ces phases ne sont point régulières. Elles présentent seulement un certain caractère de périodicité.

2° Grains non scintillants

Ils donnent une lumière continue sans variation ou du moins avec des variations faibles. On voit parfois des grains de ce type présenter le graphique suivant.



Un quatrième groupe de caractères sera fourni par l'intensité lumineuse et l'on aura :

1° Grains pâles

2° Grains lumineux

En cinquième lieu on distinguera la netteté des contours, et cela donnera :

1° Grains flous

2° Grains nets

Sixièmement, la présence ou l'absence d'anneaux d'interférence interviendra.

1° Grains à anneaux

2° Grains sans anneaux

Pour les premiers il faut bien préciser ce que j'entends par anneaux. Il y a des grains qui, dès qu'on fait varier le point, présentent autour d'eux des anneaux d'interférence très nets. D'autres, au contraire, disparaissent dès qu'ils ne sont plus au point. Il semble que cette propriété soit en rapport avec la luminosité plus ou moins grande et que les grains à la fois assez volumineux et très lumineux donnent des cercles d'interférence. Toutefois, j'en ai rencontré de très lumineux qui n'en donnaient pas, de peu lumineux qui en donnaient de très beaux, Même remarque pour la dimension.

Etudions, maintenant que ces indications géné-

rales ont été données, le sérum lymphatique. Pour cela, le plus simple est d'observer l'exsudat provenant d'une ponction de séreuse enflammée : pleurésie non purulente, ascite, arthrite, etc., ou encore de recueillir de la lymphe dans les sacs dorsaux de la grenouille, de laisser l'un et l'autre de ces liquides se coaguler et d'étudier leur aspect ultramicroscopique.

Prenons le premier cas — Le liquide d'une ponction de pleurésie observée après coagulation aussi complète que possible, c'est-à-dire après conservation durant plusieurs jours en milieu aseptique, nous montre d'une part des grains pâles, flous, mats, à mouvements peu amples, qui sont peu nombreux et c'est à peine si, ça et là on en distingue quelques uns ; des grains scintillants, d'autre part, et très mobiles qui seuls se montrent assez nombreux.

Le procédé de numération employé pour la lymphe et qui n'est autre que celui employé couramment pour la numération des hématies nous donne ici les résultats suivants :

NUMÉRATION SUR 20 CHAMPS	
Grains Scintillants	Grains pâles
12	0
8	2
15	2
16	1
10	1

Renouvelons maintenant l'expérience en prenant un liquide tout fraîchement extrait, examinons-le par exemple dix minutes après la ponction.

Alors tout change. Les numérations sont devenues

inutiles et très difficiles. On voit en effet des foules de grains de toutes les espèces se heurter, se poursuivre, se grouper de la façon que je décrirai plus loin lorsque je parlerai de la coagulation. Il y a là deux aspects entièrement différents, entièrement opposés. Nous pouvons donc dès à présent noter que le liquide pleurétique *présente avant et après coagulation un aspect entièrement différent.*

Mais étudions ce qui se passe à mesure que les coagulums se forment.

J'ai eu grâce à l'obligeance de M. le Prof^r P. Courmont possibilité de commencer cette étude que j'ai poursuivie ultérieurement au Val de Grâce dans le service de M. le Prof^r Simonin et au Collège de France dans le Laboratoire de M. le Prof^r Henneguy et j'ai pu obtenir des résultats assez complets. On voit, à mesure que les coagulums de plus en plus volumineux se succèdent, diminuer la quantité de grains de chaque espèce, mais surtout celle des grains pâles et flous alors que le nombre des scintillants n'est à peu près pas modifié.

On peut donc dire dès à présent, que au cours de la coagulation et sans préjuger de la façon dont s'est effectuée cette opération, les grains pâles et flous quittent progressivement le liquide, alors que les grains scintillants y demeurent à peu près constants. Nous verrons plus loin ce que deviennent les grains qui ont quitté le liquide. L'expérience répétée à plusieurs reprises avec les divers liquides énumérés au début de ce chapitre a toujours donné des résultats absolument comparables.

Voyons maintenant ce que nous donnera la lymphe de grenouille.

Là nous n'avons plus à faire à un liquide ne contenant que des corps chimiques, nous allons trouver des cellules, les leucocytes, et alors, bien que nous ne les étudions pas, nous devons compter avec eux, car en leur présence vont se passer des phénomènes du plus haut intérêt, dont le détail sera décrit plus loin, mais dont les résultats seront exposés ici.

La lymphe, observée au moment où elle est recueillie, nous offre à considérer un fond sombre avec quelques rares plages nébuleuses, des leucocytes, des granulations graisseuses et des grains des trois espèces décrites plus haut. Ces grains sont assez nombreux, il y a surtout des grains pâles et flous. Au bout de quelques instants d'observation le nombre des grains scintillants augmente, ils activent les mouvements des autres grains en les heurtant et les bousculant, et cet état dure jusqu'à ce que la lymphe soit coagulée.

Prenons maintenant de la lymphe coagulée aseptiquement, conservée en tube fermé, et étudions le liquide exsudé. Il se montre, comme le liquide pleural conservé après coagulation très pauvre en grains, et contenant surtout des grains scintillants qui lancent sur un fond maintenant dépourvu de plages nébuleuses, des éclairs multicolores.

Ainsi les deux liquides observés jusqu'à présent, présentent avant la coagulation et après elle des caractères bien typiques : avant, ils sont riches en grains de toutes espèces, après ils contiennent bien moins de grains et ceux qui subsistent sont surtout des grains scintillants.

Mais la lymphe et les liquides lymphatiques ne

sont pas les seuls à nous offrir ces caractères. Si nous passons du liquide général, milieu intérieur de l'organisme à ce milieu plus spécial qu'est le sang, nous allons constater les mêmes faits.

B). — Examen du SANG et du SÉRUM sanguin

Le sang et le sérum sanguin méritent une étude très spéciale qui sera faite plus loin, en effet, alors que le premier est susceptible de se coaguler spontanément, le second représente ce qui reste du sang après la coagulation.

Comment donc se présente le sang lorsqu'on l'étudie à l'aide de l'appareil de Leitz ?

Laissant de côté les éléments volumineux tels que leucocytes, hématies, plaquettes et hémocoques, nous voyons dans la préparation, se mouvoir un très grand nombre de grains et parmi ces grains nous retrouvons là encore les trois types principaux que je décrivais plus haut : grains scintillants, grains pâles et lents, grains brillants à double contour. Là encore nous retrouvons un fond de préparation non pas franchement obscur mais plus ou moins nébuleux sur lequel se détachent de plus en plus nets, de plus en plus visibles et brillants des grains qui se heurtent et se bousculent comme ceux de la lymphe jusqu'à ce que la coagulation soit faite.

Quant au sérum, c'est un liquide où les grains sont peu nombreux, et où se présentent surtout des grains scintillants ; il est analogue sinon identique au liquide obtenu après coagulation du produit d'une ponction pleurale.

Ainsi nous voyons que dans les liquides lymphatiques et dans les liquides sanguins existent des

grains offrant des aspects semblables, que dans ces deux ordres de liquides la coagulation amène une diminution du nombre des grains mais *que les grains scintillants très mobiles à bords nets sont les moins touchés*, et restent en nombre relativement élevé.

Pour le moment contentons nous de noter ce fait sans en rien déduire et continuons nos observations.

CHAPITRE III

CARACTÈRES DE SUBSTANCES REJETÉES DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR.

A). — CARACTÈRES du LAIT

Quittant les liquides du milieu intérieur, pour passer aux liquides du milieu extérieur, aux liquides secrétés, nous allons retrouver des caractères analogues à ceux décrits déjà.

Là encore nous avons des grains lumineux très scintillants, très brillants, très nets, très mobiles. Là encore nous retrouvons les trois ordres dont je parlais plus haut.

Des liquides secrétés, qui ne sont pas produits de déchet, le lait est le plus faciles à se procurer, son observation est facile aussi, c'est donc par lui que je vais commencer l'étude de ce second groupe.

Le lait se présente, lorsqu' on l'étudie à l'ultramicroscope sans l'avoir modifié par aucune préparation, comme formé d'une masse floconneuse blanche, offrant ça et là des points plus lumineux mais sans que l'on puisse distinguer aucun détail dans la masse, le champ microscopique étant illuminé par une teinte blanche l'occupant tout entier.

Si au contraire on observe du lait dilué avec de l'eau optiquement vide, on voit, à mesure que la dilution présente un titre plus élevé la netteté des détails devenir de plus en plus grande. A 1/200 on

distingue déjà nettement d'une part les globules graisseux, de l'autre des grains mobiles animés de mouvements browniens et duboisiens, de taille, de luminosité, de coloration diverses, se détachant sur un fond sombre mais non entièrement obscur. On y voit (C. R. Soc. Soc. Med. des Hop. 17 Mai 1910) ces éléments, variables dans leur nombre et leur aspect sous diverses actions, se présentant de la façon suivante.

1° *Description du lait de vache pris comme type.*

— Nous voyons, outre les globules de graisse et tous les corps visibles au microscope ordinaire, trois sortes d'éléments.

- | | |
|---|--|
| A). — <i>Phosphate de chaux colloïdal.</i> | { Grains brillants à double contour, offrant, lorsqu'on fait varier le point, des couronnes concentriques d'anneaux d'interférence. Ces grains sont des granules à l'état de colloïde instable et ils tendent spontanément à passer à l'état de cristalloïde, c'est à dire de phosphate monocalcique dissous, et en présence d'acides plus forts et de diverses actions ils donnent un sel de chaux ou de la chaux et de l'acide phosphorique libre. |
| B). — <i>Caséine et albumine.</i> | { Grains flous et pâles, peu brillants, dont le mode de mouvement est analogue à celui des phosphates. Ces grains sont généralement plus fins que les phosphates. |
| C). — <i>Nucléo-Aloumines et diastases.</i> | { Grains à contour dur, mais changeant de place sans cesse. Il est difficile de définir leur forme. Ils scintillent intensément, se meuvent dans plusieurs plans, sont de taille variable, |

(L'identification des espèces a été faite en plaçant dans des conditions de concentration saline, de réaction et de température semblables à celles des liquides observés, des pseudo-solutions artificielles des divers corps contenus dans ces liquides et énumérés ci-dessus, et en les observant à leur tour

à l'ultramicroscope. Les résultats obtenus sont constamment conformes au tableau précédent.)

Le nombre total de ces grains est variable avec le temps écoulé depuis la traite et d'autant plus grand que ce temps est plus long.

2° *Comparaison des laits de femme, de chèvre et d'ânesse avec le lait de vache.* — Les laits de femme, de chèvre et de vache présentent à l'état cru le même nombre, à peu près, de grains, l'un que l'autre ; le lait d'ânesse en est au contraire beaucoup plus riche (10 fois).

3° *Action de la chauffe sur ces différents laits.* — Tous ces laits soumis en tube scellé à l'action de la chaleur présentent une augmentation du nombre de leurs grains d'autant plus grande que la température est plus élevée ; en outre, comme le dit Lemanissier dans sa thèse (Paris, 1905), ces grains deviennent plus lumineux, mais en outre ils prennent une forme et des mouvements qui leur donnent des bords presque nets et l'aspect presque scintillant d'une diastase, si ce sont des albumines, une plus grande luminosité et des cercles plus nombreux si ce sont des phosphates. Les diastases perdent leurs mouvements à partir de + 70° à + 80°.

L'augmentation du nombre de grains est plus marquée pour le lait frais que pour les laits traités depuis longtemps et pour le lait de femme que pour le lait de vache.

4° *Action de stérilisation.* — La stérilisation en vase clos donne les mêmes résultats que la chauffe et les pousse à leur maximum, comme le montre le tableau suivant :

NUMÉRATION SUR 25 CHAMPS

Lait de :	cru	stérilisé
ANESSE :		
Moyenne des laits examinés		
1 h. après la traite.....	194 grains	614 grains
FEMME :		
Mêmes conditions que ci-dessus	19	73
VACHE :		
Mêmes conditions que ci-dessus	19	57
VACHE :		
Moyennes de laits examinés à		
des époques variant de 3 h.		
à 24 h. après la traite.....	29	50

La stérilisation se comporte donc à l'égard du lait comme le ferait un acide à l'égard d'un colloïde négatif.

Le lait étant maintenant caractérisé au point de vue ultramicroscopique, il convient de bien noter les types de grains qu'il nous a offert et de rappeler qu'il y en a trois ordres principaux :

- 1°) — Brillants, nets, très mobiles ;
- 2°) — Grains pâles, à bords flous, peu mobiles ;
- 3°) — Colorés, très nets, peu mobiles présentant des hâlos.

Ces trois ordres de grains ont une signification différente, et ils se retrouvent dans les autres liquides que nous allons étudier, de tous ce sont les premiers qui nous intéresseront le plus à l'avenir, par le rôle qu'ils jouent dans les phénomènes diastatiques. Pour nous faire une idée nette de la façon dont se présentent ces phénomènes à l'ultramicroscopie, nous allons décrire bientôt les caractères ultramicroscopiques de l'élément diastatique agissant sur le liquide que nous venons d'étudier et capable d'intervenir spécifiquement dans sa coagulation : le lab.

Toutefois il est nécessaire de voir auparavant

comment se manifeste à l'ultramicroscope une substance qui va nous intéresser bientôt au même titre que la caséine du lait, et dont la pseudo solution va offrir un aspect assez analogue à la sienne : l'ovalbumine.

B) CARACTÈRES de L'OVALBUMINE

C'est une pseudo solution tout artificielle que nous allons étudier, mais qui se réalise journellement dans l'alimentation et qu'il nous faut connaître pour étudier les divers phénomènes diastasiques qui nous intéressent : c'est la pseudo solution d'ovalbumine dans l'eau salée à 6 0/00 NaCl.

Ce sont alors des grains assez volumineux, pâles, flous, à bords comme frangés, très peu mobiles, ils sont en outre accompagnés de plages opalescentes dans lesquelles on ne peut distinguer aucun détail de façon nette mais qui se mobilisent lentement. Ces grains sont remarquables par leur grosseur et leur faible mobilité.

Pour obtenir cette pseudo solution, il faut la faire non à un titre quelconque car alors on risquerait de ne rien distinguer du tout : tout le champ serait blanc, mais avec une partie d'ovalbumine récente et 10 environ d'eau distillée salée à 6 0/00. On a alors une pseudo solution très belle et montrant avec netteté ces gros grains pâles et flous très peu mobiles se déplaçant lentement dans la préparation. Il est clair que dans d'autres conditions nous aurions des grains d'aspect différent, comme l'a montré Mayer.

C'est tout le contraire que nous allons voir maintenant.

CHAPITRE III

**CARACTÈRES NORMAUX DE DIVERSES PSEUDO
SOLUTIONS BIOLOGIQUES, DIASTASIQUES.**

A). — CARACTÈRES du LAB

Les labs sont des substances qui d'une espèce animale à une autre peuvent varier considérablement quant à leurs propriétés de détail mais, de même qu'il existe des propriétés générales qui appartiennent à toutes les espèces de lab, de même au point de vue ultramicroscopique, il y a une série de caractères communs aux divers labs que j'ai étudiés et même à d'autres zymases et ce sont eux qui vont fournir les éléments de la description d'ensemble que je donne ici.

Les labs se présentent comme constitués par un nombre très considérable de grains généralement fins et qui, très mobiles, extrêmement scintillants et lançant des éclairs dans diverses directions, se meuvent avec rapidité dans tous les plans, plongent au fond de la préparation ou remontent, donnant l'impression d'une multitude grouillante d'êtres animés. Leurs mouvements sont des mouvements appartenant pour la plupart au type brownien, mais de plus les grains se déplacent à travers la préparation dans divers sens et diverses directions. Ils offrent des mouvements appartenant à un type spécial nommé type Duboisien, parce que c'est R. Dubois qui en 1886 les a observés nettement, comme nous l'avons vu plus haut. Les mouvements browniens, comme le fait remarquer Lancien, sont

très réduits, ils se font sur des étendues comprises entre 5 et 80 $\mu\mu$, tandis que les mouvements Duboisiens se font sur des étendues comprises aux environs de 150 $\mu\mu$. Les mouvements duboisiens sont extrêmement nets et de beaucoup les plus importants parmi ceux que l'on voit dans le lab, bien qu'ils ne soient pas ceux du plus grand nombre de grains.

Le fond d'une préparation de lab, qu'il soit dilué peu ou beaucoup, est franchement obscur et ne présente en aucune façon de teinte opalescente comme celle que j'ai indiqué plus haut pour le lait.

Des innombrables grains que l'on voit dans une préparation de lab, tous n'offrent pas les caractères que je viens d'énumérer, plusieurs ressemblent beaucoup à des grains d'albumine, analogues à ceux que j'ai décrits plus haut dans le lait, et comme eux sont pâles non scintillants, un peu flous et peu mobiles.

D'ailleurs il y a lieu de penser que ce n'est que dans le cas où l'on observe un lab obtenu directement après macération d'estomac de veau que l'on a affaire à un lab qui ne contienne pas d'éléments étrangers au produit de sécrétion de l'estomac. Nous ne pouvons pas, bien entendu, dire que le produit obtenu, même dans ce cas, est un corps défini, n'ayant pas d'autres propriétés que celles du lab, car on obtient aussi de la pepsine, on obtient tous les produits des glandes stomacales, mais enfin on peut dire que l'on n'a que des produits existant dans le milieu où se font chez l'animal, la digestion, la coagulation du lait.

Au contraire, les liquides obtenus par d'autres moyens peuvent contenir bien d'autres éléments.

J'ai observé du lab de veau fraîchement préparé, j'ai observé du lab commercial, j'ai observé du lab de nourrisson obtenu par lavage de l'estomac ; on peut remarquer que, de ces liquides, le premier seul est une solution de lab naturelle, les autres sont ou additionnés de substances conservatrices (lab commercial) ou mélangés de produits alimentaires (lab d'enfant). Mais néanmoins tous conservent ce caractère commun et spécifique de présenter en plus grand nombre des points scintillants et mobiles au plus haut degré qui, au milieu des grains de diverses substances offertes par le milieu étudié, demeurent toujours discernables et vraiment spécifiques.

Quand je dis qu'ils sont spécifiques, je n'entends point par là qu'ils soient propres au lab seul, car nous verrons bientôt d'autres substances en présenter, mais je veux dire que tout grain qui n'a pas la propriété d'intervenir activement dans la coagulation du lait ne présente pas les scintillements ni la motilité spéciale dont j'ai parlé plus haut.

Les raisons pour lesquelles je donne cette caractéristique et les expériences sur lesquelles elles sont appuyées sont exposées plus loin à la III^e partie.

B) — CARACTÈRES du SUC GASTRIQUE et des PEPSINES

Le deuxième liquide secrété dont j'ai tenté l'étude, a été du suc gastrique que j'ai obtenu non par gastrotomie mais par extraction au moyen d'une prise stomacale directe.

J'opérais à la façon de Spallanzani par l'ingestion de petites éponges stérilisées retenues par un fil et protégées par un petit tube en celluloid stérilisé, contre les souillures extérieures. Les quantités de suc ainsi obtenues étaient minimées mais bien largement suffisantes pour une étude ultramicroscopique.

J'ai constaté ici la présence d'une énorme quantité de grains extrêmement mobiles, très fins, très scintillants, se mouvant dans tous les plans. Auprès d'eux se trouvent en nombre plus restreint des grains plus volumineux, plus pâles, à bords un peu flous, qui se meuvent lentement.

Chacun de ces grains plus gros semble à chaque instant heurté, bousculé, projeté de divers côtés par les innombrables petits grains qui l'entourent. Parfois le mouvement se ralentit par place pour bientôt reprendre son activité première.

On ne peut manquer de rapprocher ces caractères de ceux que j'indiquais plus haut pour le lab.

On les constatera encore semblables en tous points chez les pseudo-solutions de pepsine en milieu acide.

Ces pseudo-solutions peuvent être faites soit avec des pepsines extractives commerciales, soit de préférence avec des pepsines préparées directement au laboratoire ;

Lorsqu'on fait une solution filtrée faible de pepsine en milieu acide (5 pepsine, 6 Acide chlorhydrique, 1000 Eau) on constate la présence, sur le fond franchement obscur de la préparation, de grains pour la plupart assez fins, groupés parfois par 3, 4, 6, 10 ou plus, mais le plus souvent isolés. Ces grains sont doués d'une extrême mobilité, ils sont scin-

tillants, lancent avec rapidité de vifs éclairs dans tous les sens, plongent dans la préparation ou remontent à sa surface exactement comme le font les grains de lab.

Si l'on considère ces grains isolément, on les voit tantôt se lancer dans une direction, tantôt dans une autre, ce mouvement est un mouvement brownien, mais ils présentent en outre une particularité fort remarquable, les grains semblent se poursuivre les uns les autres et se bousculer, et parfois ils parcourent ainsi dans la préparation un espace considérable. Nous verrons plus loin quelle importance présentent ces mouvements dans la digestion pepsique. Ce sont des mouvements en tourbillon du type duboisien et les caractères qu'ils offrent là sont les mêmes que ceux décrits par M. le P^r R. Dubois chez certains vacuolides des ferments lumineux, nous avons donc bien affaire à une série de caractères de ferment.

Mais outre ces grains scintillants, il en existe, ici comme dans le lab, qui sont flous, pâles, peu mobiles, étalés, de telle sorte qu'une solution de pepsine acide et une solution de lab, mise chacune sous le microscope ne se distingueront pas l'une de l'autre par l'aspect de leurs grains.

Si on augmente l'acidité du milieu, il y a deux phénomènes successifs qui se produisent.

Jusqu'à environ 6 0/00 l'activité des mouvements croît, au delà, elle décroît et bientôt cesse complètement ou à peu près.

C). — *CARACTÈRES de la PLASMASE & CARACTÈRES
PROPRES à QUELQUES AUTRES DIASTASES
DÉDUITS des DONNÉES PRÉCÉDENTES*

Si maintenant je jette un coup d'œil en arrière et que je résume ce qui a été dit, immédiatement un fait dominant me frappe :

Des trois ordres de grains dont j'ai décrit les caractères typiques, un attire par dessus tout l'attention.

Il existe dans tous les liquides observés ; lorsqu'un changement s'est produit, dans le nombre des grains, ceux de son espèce ont été peu modifiés, dans le milieu étudié ; les autres éléments semblent lui obéir, et recevoir de lui une impulsion, il les agite et les déplace, cet élément c'est le grain mobile et scintillant.

Qu'est-il par rapport aux autres ? Possède-t-il des caractères fonctionnels spéciaux en rapport avec cet état physique et ces propriétés optiques spéciales ? Est-il doué d'une activité biologique propre comparable à son activité mécanique ou n'est-il qu'un grain offrant une grande mobilité sans mériter pour cela d'attirer notre attention ?

J'ai, pour répondre à cette question, observé des pseudo-solutions de diverses substances biologiques dans les milieux mêmes où elles agissent ou subsistent normalement et j'ai obtenu les résultats suivants :

Ovalbumine,	}	dans le sérum	}	à niveau constant, lents,
Lacto-globuline,		sanguin filtré		non scintillants, pâles,
Sérine,		offrent surtout		flous, sans anneaux,
Sérum globuline		des grains		de dimensions moyennes,
Pepsine { dans suc gastrique	}	offrent	}	à niveau variable, rapides,
filtré				
Ptyaline { dans salive		des		à bords tranchés, sans anneaux,
filtrée				
Lab { commercial pur ou	}			
bien en suc gastri-				Procédé A. Schmidt
que filtré				
Papaïne dans l'eau				ou sérum filtré.
Plasmase {				

Il semble donc bien que nous puissions considérer l'abondance des grains scintillants, très mobiles, très rapides, à contours nets comme étant caractéristique des pseudo-solutions diastasiques.

Il est à remarquer que les métaux colloïdaux et les nucleo albumines présentent aussi des caractères très analogues mais cela ne fait que confirmer ce que j'avance, car on connaît les fonctions zymatiques des nucleo albumines, et le fait que les métaux colloïdaux sont capables d'actions diastasiques intenses. (1)

Voilà donc un premier point acquis, mais gardons-nous de nous laisser entraîner, de généraliser et définissons-nous de quitter les limites que je me suis imposé. Constatons sans expliquer.

(1) Nous devons ici rappeler que BÉCHAMP et ESTOR avaient décrit il y a longtemps déjà dans les ferments, des grains analogues à ceux-ci, et que c'est à tort selon nous qu'on négligea de tenir compte de leur travail. Monsieur le Professeur R. Dubois présenta les idées que je vérifie aujourd'hui et fut également mis en doute.

Pour le moment, contentons-nous de terminer ces observations générales en disant que, pseudo dissoutes dans leur milieu biologique normal, les zymases que j'ai observées sont caractérisées à l'ultramicroscope par des grains *scintillants, très mobiles, à grande luminosité, à contour net*, plongeant ou montant dans tous les sens et toutes les directions dans la préparation, et que ces grains sont absolument constants chez toutes.

Planche II



Albumine d'Euf
au 1/1000 =

Phosphate de
Soude

Albumine d'Euf
au 1/100 =

RECHERCHES COMPARATIVES SUR LES MOUVEMENTS DES GRANULATIONS ZYMASIQUES.

CHAPITRE I

LES MODIFICATIONS DES CARACTÈRES NORMAUX DE DIVERSES PSEUDO-SOLUTIONS DIASTASIQUES PAR DIVERS AGENTS.

A). — LA CHALEUR

Lorsqu'on a observé l'une des pseudo-solutions diastasiques dont il est parlé plus haut, à la température du laboratoire, soit + 15° environ, on voit les grains qui la constituent présenter des mouvements spéciaux caractérisés par les propriétés que j'ai décrites.

Si on fait varier progressivement la température de la préparation sous le microscope même, on obtient des modifications dans ces mouvements, qui sont extrêmement nettes et doivent être distinguées en modifications dues à la chaleur et modifications dues au froid.

Ce sont des accélérations ou des ralentissements, des scintillements plus intenses ou plus faibles, des modifications d'état physique des grains qui peuvent passer d'une espèce à l'autre.

Dans le cas où la température s'élève, on voit les mouvements s'accélérer d'une façon d'abord peu considérable puis de plus en plus à mesure que la température s'élève davantage, jusqu'à une valeur

maximum, au delà de laquelle le mouvement décroît presque subitement, et où les grains ne se présentent plus que comme des corps inertes et simplement suspendus dans le liquide. Ce fait est très important à noter car il fait voir que les mouvements des grains diastasiques ne sont point des mouvements purements passifs mais qu'ils sont en rapport au moins pour une grande part avec les propriétés diastasiques elles mêmes de ces grains.

Prenons par exemple une solution de lab commercial : Examinée à $+15^{\circ}$ elle offre des grains à mobilité assez considérable, du type que j'ai décrit plus haut. Chauffons d'abord cette solution à $+100^{\circ}$ et examinons là : tous ces mouvements ont disparu, nous ne voyons plus que des grains comme englués ne se mouvant plus que par les courants qui peuvent se produire dans la préparation et provoquer des mouvements de translation. On les voit alors pâles, presque sans lumière, à bords flous, plus ou moins réunis, mais réunis d'une façon lâche et non plus groupés comme dans les cas où il s'agissait de grains de lait coagulé. Ils sont en effet comme entourés d'une sorte d'atmosphère nébuleuse qui donne à l'œil l'impression que donnent des graines de lin infusées quelque temps et entourées de leur enduit mucilagineux.

Si au lieu de cette action brutale d'une haute température nous faisons agir sous le microscope même une température de plus en plus élevée soit par l'intermédiaire d'une platine chauffante soit par tout autre procédé, tel que par exemple la concentration au moyen d'une lentille des rayons solaires sur un

point de la lame où on fait l'observation, et non loin de la préparation, nous voyons les grains se mouvoir de plus en plus vite jusque vers $+ 38^{\circ}$ environ, à ce moment l'activité des grains est très considérable ; vers $+ 50^{\circ}$, une diminution très nette de mobilité se manifeste déjà ; vers $+ 55^{\circ}$ elle est plus marquée encore ; vers $+ 60^{\circ}$, $+ 65^{\circ}$, les grains ne se meuvent plus que faiblement. Toutefois, à ces températures, ils n'ont pas l'aspect englué et enveloppé de mucilage dont je parlais plus haut. Il m'a semblé que c'est vers $+ 70^{\circ}$ environ que cet aspect se manifestait, et lorsqu'il s'est montré, le grain est pour toujours immobilisé. Au contraire, tant qu'il demeure semblable à ce que j'ai décrit comme aspect type des grains de ferment, à l'activité du mouvement et du scintillement près, le grain presque immobilisé par chauffage, peut par refroidissement reprendre son activité primitive, et en laissant refroidir la préparation chauffée à $+ 60^{\circ}$ on voit les grains redevenir mobiles et scintillants, et reprendre vers $+ 38^{\circ}$ leur maximum d'activité. Il y a lieu de noter que ce que je viens de dire se rapporte surtout aux mouvements duboisiens, les mouvements browniens semblent subsister jusqu'à $+ 80^{\circ}$ environ.

Mais que va-t-il se produire si la température s'abaisse au lieu de s'élever ? Dans ce cas la mobilité va s'affaiblir de plus en plus, mais bien peu avant 0° elle n'est pas encore nulle. On peut dire que de $+ 10^{\circ}$ à $+ 5^{\circ}$ les grains sont encore bien nettement mobiles. A 0° , la congélation les immobilise presque, mais même prolongée longtemps elle ne les empê-

che jamais de se mouvoir à nouveau normalement lorsque la glace fond.

Ainsi donc l'excès de chaleur *détruit* la motilité des grains de lab ferment, la congélation demeure sans action définitive sur eux.

J'ai constaté les mêmes phénomènes et les ai vu se produire dans le même sens sur de la pepsine. Enfin les modifications que j'ai décrites dans le lait sous l'action de la chaleur, sont, en ce qui concerne ceux de ses éléments que leurs caractères ultra-microscopiques rapprochent des diastases certaines, directement comparables à ce que je viens de décrire.

B). — LA SAURE et la DÉSHYDRATION

L'action des sels sur les diastases a déjà été maintes fois étudiée, au point de vue chimique ou microbiologique, l'étude que j'en ai fait au point de vue ultramicroscopique se borne à une série de comparaisons de motilité des grains sous l'action de divers sels mêlés aux préparations étudiées.

On peut dire qu'en général de hautes doses de sels, quels qu'ils soient, arrêtent les mouvements des grains, en particulier les sels des métaux lourds, mais qu'à des doses faibles ils n'agissent pas sur la motilité des grains de ferment.

Ainsi le NaCl en solution saturée arrête l'activité de la pepsine, du lab, mais entre 1 et 20 0/00 il demeure d'abord sans action puis ralentit de plus en plus la motilité des grains à mesure que la concentration s'élève. De même pour SO^4K^2 , pour KCl, SO^4Na^2 , PO^4HNa^2 .

Voici les autres sels avec lesquels j'ai expérimenté :

Ayant préparé en milieu acide à 3 0/00 HCl de la pepsine à titres divers et l'ayant soumise à l'action de NaCl , KCl , KBr , PO^4HNa^2 , SO^4Fe , $(\text{NO}^3)^2\text{Fe}$, NO^3Ag , $(\text{NO}^3)^2\text{Hg}$, $(\text{NO}^3)^2\text{Cu}$, $(\text{NO}^3)^3\text{Ur}$, HgCl^2 , SO^4Am^2 , SO^4Na^2 , SO^4Zn , CO^3Na^2 , CaCl^2 , PO^4HCa , CO^3Ca , $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$, SO^4Ca , j'ai constaté que de tous les sels solubles énumérés ci-dessus la plupart ne modifient *en rien* l'aspect ultramicroscopique des grains de pepsine ni leurs mouvements (1) sauf s'ils sont employés à des doses voisines de celles où ils coagulent l'ovalbumine et entravent la digestion. Par contre les sels insolubles, en particulier CO^3Ca , $(\text{PO}^4)^2\text{Ca}^3$, semblent attirer et fixer sur eux une foule de grains de pepsine qui adhèrent très fortement. Et enfin NO^3Ag , $(\text{NO}^3)^2\text{Hg}$, HgCl^2 , SO^4Am^2 , NO^3Cu immobilisent très rapidement, à dose faible, (5 0/00 et moins) les grains de pepsine. D'autre part, si l'acidité devient trop faible, la pepsine, qu'il est impossible d'obtenir pure et qui contient, quoique acide, des corps basiques, est partiellement précipitée et apparaît à l'ultra en grains plus ou moins fortement groupés. Si l'acidité s'élève, la pepsine se redissout et elle reprend son aspect normal. L'addition de sels solubles alcalins et en particulier de sels de soude ralentit légèrement les mouvements.

Ils m'ont donné tous des résultats analogues à ceux indiqués pour NaCl . Toutefois il faut remarquer

(1) A condition que l'action ne soit pas trop prolongée. Au delà de 4 jours avec NaCl (10 0/00) il y a déjà ralentissement. Au bout d'un mois tout est complètement immobilisé.

que les sels toxiques sont aussi les sels les plus rapidement immobilisants pour les grains de ferment.

Je n'ai pas là observé les doses exactes auxquelles les actions se manifestent avec telle ou telle intensité, mon intention n'a été que de chercher dans quel sens agissent les sels et de montrer que de même en solution forte la plupart d'entre eux arrêtent l'action diastasique, et en solution faible l'activent ou lui sont indifférents, de même en solution forte ils arrêtent les mouvements des grains de ferment et en solution faible leur sont indifférents. Ils ne les activent pas toujours alors qu'ils peuvent activer l'action diastasique, nous verrons plus loin pourquoi.

De même que la salure, agit la déshydratation.

A mesure que l'on concentre une préparation, par exemple par évaporation, on voit la motilité des grains diminuer progressivement, mais toutefois l'hydratation ne donne pas le phénomène réciproque. En effet, plus on dessèche et plus le mouvement se ralentit, mais il n'est pas vrai que plus on hydrate et plus le mouvement s'accélère. Il y a un optimum au delà duquel le mouvement se ralentit et devient presque insignifiant lorsqu'on arrive à une très grande richesse en eau.

Ainsi pour la pepsine de veau, il semble que ce soit vers 10/100 que l'activité maximum soit obtenue, cette valeur est également celle qui se montre la plus favorable pour le lab.

C) — LA LUMIÈRE

Il n'est pas douteux que la lumière ait une action

destructive sur l'activité fonctionnelle des diastases. En a-t-elle sur la motilité de leurs grains ?

Je peux répondre par l'affirmation la plus nette.

Des solutions de pepsine, de lab, de sérum sanguin et de sérum de liquide pleural conservées aseptiques et exposées au grand soleil de 10 heures du matin à 3 heures du soir pendant 5 jours offraient au bout de ce laps de temps une diminution considérable de la motilité de leurs grains. De même, exposés pendant huit heures devant une lampe à arc à lumière refroidie par un ballon rempli d'une solution d'alun, ces liquides n'avaient presque plus de grains mobiles. Après 12 jours d'exposition au soleil les grains étaient immobilisés à peu près complètement. Mais il est nécessaire pour obtenir des résultats nets d'employer comme récipient la portion effilée de pipettes bactériologie que l'on remplit du liquide à étudier après les avoir stérilisées, dont on ferme à la lampe l'extrémité que l'on coupe ensuite en lui laissant 4 à 5 c/m de long seulement. On ferme à son tour l'extrémité encore ouverte, on ne conserve que le tube très fin, et l'on rejette le corps large de la pipette. Dans ce tube de quelques dixièmes de millimètre de diamètre, l'action de la lumière se fait sentir sur tout le liquide intégralement et l'immobilisation se produit très bien.

Je dois dire toutefois que si j'ai obtenu une forte atténuation des mouvements, je n'ai jamais pu en obtenir la cessation complète et que bon nombre de fois, lorsque les tubes employés contenaient trop de liquide, le ralentissement n'était guère sensible.

Il faut nécessairement employer des tubes *très fins* contenant seulement une ou deux gouttes de liquide, et leur faire subir une très vive insolation.

E). — *Les DONNÉES RELATIVES aux MOUVEMENTS des GRAINS et à leur IMMOBILISATION*

Les albuminoïdes nous le savons sont des colloïdes négatifs, les métaux et les sels colloïdaux sont au contraire des colloïdes positifs.

D'après ce que nous savons des lois générales d'action réciproque des charges électriques sur d'autres charges placées à leur voisinage, soit en nous reportant à ce qu'ont écrit en particulier Cotton et Mouton sur ce sujet, soit plus simplement en nous rappelant les lois générales de la physique, nous voyons une nécessité d'attraction entre le colloïde positif et le colloïdes négatif. Donc le métal ou le sel attirera l'albumine.

Si maintenant nous considérons non plus un métal ou un sel colloïdal, mais une diastase comme la pepsine, comme le lab, nous voyons que ce sont des colloïdes positifs, ainsi que la plupart des nucleo-albumines. Elles vont donc se comporter à l'égard des albumines proprement dites comme les métaux et les sels colloïdaux.

Un autre point bien connu, c'est que, comme l'ont montré Mayer, Schaeffer, Fauré-Frémiet etc, le changement de réaction du milieu où se trouvent les albumines fait apparaître ou disparaître les grains de ces albumines.

Observant les microsomes de Campanella Umbellaria, où l'on trouve les grains albumineux libres

comme dans une pseudo-solution ordinaire, Fauré-Frémiet dit :

« Si l'on fait agir une solution de soude au
« 1/1000^e normale.... on voit les microsomes dispa-
« raître peu à peu ; le macronucleus reste pourtant
« très lumineux, puis, si l'on augmente la concen-
« tration alcaline, la luminosité s'affaiblit progressi-
« vement pour disparaître avec la solution $\frac{N}{500}$. Le
« contenu du macronucleus dont la membrane reste
« visible, est plus noir que le milieu environnant.
« Si maintenant nous diminuons la concentration
« et si nous ramenons l'eau ordinaire, le même
« phénomène se reproduit en sens inverse, et les
« microsomes (grains) reparaissent.... Tout se passe
« comme si le macronucleus était constitué par un
« colloïde négatif renfermant en milieu ordinaire des
« granules microscopiques..... Si l'on effectue le
« transport électrique des microsomes au dedans
« de la membrane du macronucleus, on voit ceux-ci
« se diriger vers l'anode. Ils sont donc bien désignés
« négatif ».

Or j'ai moi-même indiqué (1) que sous l'action des acides la visibilité des grains chez les *Vaucheria*, *Spirogyra*, *Cladophora*, était augmentée, c'est donc le même ordre de phénomènes que celui montré par M. Fauré-Frémiet, et il apparaît de même sens.

Ainsi dans les pseudo-solutions que nous étudions aujourd'hui, nous rencontrons les mêmes phéno-

(1) Recherches ultramicroscopiques touchant l'action de divers agents extérieurs sur les conditions de vie du protoplasma. — Arch. internat. physiol. sept. 1911.

mêmes que dans celles intérieures à la cellule vivante.

Comment se produisent donc ces actions qui nous apparaissent ainsi comme générales et quelle peut-être la raison de ces mouvements que nous venons de décrire et de leur cessation dont la coagulation, nous allons le voir, est la formela plus typique.

Considérons des corps $A_1 A_2 A_3$ chargés de certaines masses électriques, $q_1 q_2 q_3$ et un point M placé dans le champ électrique créé par $A_1 A_2 A_3$ et présentant une charge Q . Nous savons que si $r_1 r_2 r_3$, sont les distances de M à A_1 et A_2 , nous avons

$$\frac{Q q_1}{r_1^2} = f_1 \quad \frac{Q q_2}{r_2^2} = f_2 \quad \frac{Q q_3}{r_3^2} = f_3$$

Décomposons alors chacune des forces f suivant trois axes de coordonnées rectangulaires $X Y Z$, nous avons, si $\alpha_1 \beta_1 \gamma_1$ sont angles de la force f_1 avec ces axes, et si on appelle $X Y Z$ les coordonnées de M et $X_1 Y_1 Z_1$ celles de A_1 ,

$$\cos \alpha_1 = \frac{X - X_1}{r_1} \quad \cos \beta_1 = \frac{Y - Y_1}{r_1}$$

$$\text{et } \cos \gamma_1 = \frac{Z - Z_1}{r_1}$$

les composantes sont donc

$$\frac{qq_1 (X - X_1)}{r_1^3} \quad \frac{qq_1 (Y - Y_1)}{r_1^3} \quad \frac{qq_1 (Z - Z_1)}{r_1^3}$$

r_1 étant défini par l'équation

$$r_1^2 = (X - X_1)^2 + (Y - Y_1)^2 + (Z - Z_1)^2$$

en opérant de même sur chaque force on aura :
somme des composantes :

$$\text{pour l'axe des X} \quad X = \Sigma \frac{qq_1 (X - X_1)}{r_1^2}$$

$$\text{pour l'axe des Y} \quad Y = \Sigma \frac{qq_1 (Y - Y_1)}{r_1^2}$$

$$\text{pour l'axe des Z} \quad Z = \Sigma \frac{qq_1 (Z - Z_1)}{r_1^2}$$

la résultante sera :

$$R = \sqrt{X^2 + Y^2 + Z^2}$$

Or pratiquement, nous ne distinguerons pas les grains des pseudo-solutions colloïdales de points mathématiques.

Donc chaque grain va créer un champ de force dans lequel tous les autres grains seront compris.

Il en résulte que chacun des grains d'une pseudo-solution colloïdale va être soumis à un ensemble de forces tel que l'on aura

$$R = \sqrt{X^2 + Y^2 + Z^2 + \dots}$$

Mais supposons que les distances R soient les mêmes entre les grains considérés dans tous les sens, alors $X = Y = Z = \dots$ et on a

$$R = \sqrt{\Sigma X^2}$$

Dans ce cas $R = 0$ car les distances étant les mêmes dans tous les sens, la somme algébrique des forces f est nulle.

Mais pratiquement cette donnée est irréalisable, car si nous considérons les grains placés sur le bord même de la préparation, pour eux, le champ de force n'existe que du côté regardant le centre de la préparation, et si par exemple Σ est la somme des forces dirigées vers le centre, et S celle des forces

dirigées vers l'extérieur, S étant égal à O on voit que $R = \Sigma$ et que ces grains seront attirés vers l'intérieur de la préparation. Dès lors l'équilibre est rompu et les grains extrêmes sont attirés vers le centre. Mais comme ils créent eux-mêmes chacun un champ autour de lui, il en résulte le déplacement de ces champs, et des variations dans les valeurs de R , par suite de X , Y , Z et finalement la variabilité constante de R . Comme le nombre de grains peut être pratiquement considéré comme infini il faudra un temps infini pour atteindre la position d'équilibre, et les grains demeureront toujours en mouvement.

Mais alors, comment peuvent-ils arriver à l'immobilité que nous constatons pourtant parfois ?

Deux modes sont possibles.

Ou la perte de leurs charges électriques, ou leur neutralisation réciproque.

Ainsi la chaleur leur fera perdre leurs charges, comme elle fait pour tout corps électrisé.

D'un autre côté, l'adjonction d'ions positifs les déchargera par neutralisation : ainsi agiront les acides, les électrolytes divers.

Et alors on verra dans ce cas les grains rouler, couler n'importe comment, entraînés par les courants osmotiques divers, dans la préparation, sans plus présenter aucun mouvement propre.

Ou bien au contraire ils se seront groupés entre eux en vertu des lois de l'attraction moléculaire, n'étant plus soumis à aucune direction ni à aucune condition électrique : ils seront coagulés.

CHAPITRE II

LES MOUVEMENTS DES GRAINS DANS LA COAGULATION ET LA DIGESTION

Avant de pousser plus avant ces recherches, observons de nouveau l'aspect que présentent à l'appareil de Leitz les substances dont nous nous sommes occupés jusqu'à présent, mais au lieu de les étudier à l'état d'équilibre où elles se trouvent naturellement, observons-les à ces autres états que l'on appelle coagulation ou digestion.

Prenons du lait, par exemple. Que ressemble-t-il, coagulé ? Plaçons un mince fragment de coagulum sous le microscope. De toutes parts la préparation est envahie par de la lumière blanche diffusée, rien n'est distinct. Brisons, dissocions, étalons beaucoup ce fragment comme on le ferait pour étudier une culture microbienne développée en milieu solide et observons de nouveau. Alors nous voyons de toutes parts une foule de groupes de grains accolés les uns aux autres, formant des réunions de 4, 6, 8, 10, 20 grains et plus, irrégulièrement assemblés, et remplissant tout le champ du microscope. Ces grains sont bien plus lumineux que ceux vus précédemment avant la coagulation, ils sont immobiles, pressés les uns contre les autres mais non fusionnés, et demeurent toujours bien distincts. Ils sont un peu colorés, et d'une teinte tirant légèrement sur le jaune d'or. Il n'y a plus de plages nébuleuses à demi-éclairées, plus de mouvements browniens,

plus de plongements, ni de feux scintillants, et l'ensemble de la masse donne cette fois l'impression de milliers d'étoiles immobiles dans un ciel noir.

Regardons maintenant à l'état coagulé non plus du lait, mais cette lymphe dont nous observions tantôt les grains extrêmement mobiles.

Là un phénomène bien différent d'aspect se présente à nous, ce ne sont plus des masses irrégulières de grains, mais des enchevêtrements de lignes et de filaments distincts, et surtout si nous avons laissé coaguler notre lymphe sur la lame même où nous l'étudions pour l'observer sans risquer de modifier la forme des coagula, nous voyons de longues et fines aiguilles partir par 2, 3, 4, 5 d'un point commun, s'étendre en divergeant pour aller rejoindre d'autres aiguilles venues d'autres points de la préparation et rayonnant, elles aussi, dans toutes les directions. Certaines sont trop courtes pour rejoindre leurs congénères, elles se terminent en pointe fine dans l'espace sombre sans que l'on puisse toujours très bien préciser, à cause de sa finesse, où s'achève cette pointe.

Mais comment sont constituées ces aiguilles ?

Suivons-en une de son origine à son extrémité ; nous la voyons se détacher sur le fond noir non comme une ligne brillante continue, mais comme une succession de points lumineux, ici plus gros, là plus fins, offrant même, dans leurs alternatives de grosseur et de finesse, des régions où la ténuité des grains devient extrême. A son origine, cette aiguille part d'un groupe de grains volumineux, d'un débris de leucocyte, d'une masse de grains albuminoïdes

ou minéraux colloïdes quelconques, puis à partir de là, les grains se suivent adhérents. Tous sont très lumineux, dépourvus de scintillements, immobiles, et forment une sorte de long chapelet dont l'extrémité est continuée par des grains de plus en plus fins, et dont les derniers s'éteignent peu à peu, dans le noir.

Regardons maintenant du sang.

Là encore le phénomène va être en tout pareil. Les aiguilles partiront toutefois de préférence des plaquettes de Hayem ou des hémococonies, mais à part cette différence dans le point d'origine, le phénomène se présente sous le même aspect.

Voici donc la coagulation du lait, celle la lymphe, celle du sang, — les trois liquides coagulables typiques de l'organisme, — qui se produit d'une façon telle que le résultat final peut être exprimé pour chacun d'entre eux par les mêmes termes si toutefois on laisse de côté les détails de structure.

En effet, ces termes sont :

1° Immobilisation des grains.

2° Acquisition par ces grains d'un haut degré de luminosité.

3° Perte de tout scintillement.

4° Groupement et adhésion nette entre eux sans perte de leur individualité.

Tels sont les caractéristiques des grains du lait, de la lymphe ou du sang lorsque ces liquides sont coagulés.

Comment se passent les actions qui les amènent à cet état et quel est le rôle des diastases dans ces actions, nous allons tenter de l'étudier bientôt, mais

auparavant il faut parler d'un autre ordre d'actions dans lequel peuvent intervenir des diastases. Il s'agit du phénomène antithétique à celui dont je viens de parler : de la dissociation, de l'hydrolyse, que certaines diastases peuvent faire subir à certains corps, et en particulier dans l'ordre des phénomènes qui nous occupe, des digestions gastro-intestinales.

L'une des principales diastases provoquant des digestions dont le milieu gastro-intestinal est le siège est la diastase pepsique. C'est donc à elle que je me suis adressé.

J'ai effectué des digestions artificielles sur du blanc d'œuf cuit ou cru, en milieu pepsine acide, à froid (+ 15°) et à chaud (+ 40°) et dans tous les cas j'ai obtenu des résultats comparables entre eux, la vitesse de digestion seule était modifiée.

Ne nous occupons donc que de l'aspect ultra-microscopique de l'albumine durant ces opérations ; voici ce que j'ai constaté

1° Avant de commencer la digestion, l'ovalbumine cuite a l'aspect d'une masse de grains immobiles, groupés, très brillants sans aucun signe caractéristique.

L'ovalbumine crue offre au contraire une foule de grains pâles, à bords flous, non scintillants, peu lumineux, à mobilité réduite, demeurant toujours au même niveau et ne plongeant jamais dans le fond de la préparation. A côté de ces grains quelques autres sont plus fins, plus mobiles, scintillants, à contours nets et tranchés, lançant des éclairs, ce sont de beaucoup les moins nombreux.

2° Sur l'une ou l'autre de ces ovalbumines, on

effectue la digestion en milieu aseptique, contenant 50/00 HCl, et 5 0/00 de pepsine extractive, à froid ou à chaud.

3° On observe toutes les heures par exemple l'état du produit, et l'on constate que peu à peu dans l'une ou l'autre des préparations les grains sont d'abord groupés et cela aussi bien dans la solution d'albumine cuite, que dans la solution d'albumine crue, puis après une période de durée très variable on constate que les groupes sont de moins en moins denses, de plus en plus distincts et que plusieurs se fragmentent. Un grand nombre de grains jadis groupés deviennent libres, d'autres diminuent de grandeur. Bientôt il ne reste que quelques groupes qui paraissent inattaquables et quelques grains fins, mais pâles à bords flous, non ou peu scintillants quoique très mobiles, finalement les grains fins eux-mêmes disparaissent, seuls demeurent des grains scintillants offrant les caractères de la pepsine. Ces faits ont été notés déjà par Aggazzotti dans d'autres digestions : papaine, pancréatine, ptyaline, etc., aussi peut-on les considérer comme valables non seulement pour la digestion pepsique mais pour toutes les digestions du milieu gastro-intestinal.

Ainsi, de même que plus haut nous avons vu les coagulations présenter un certain nombre de points communs, nous voyons maintenant les digestions en présenter un certain nombre d'autres:

1° Dissociation des groupes de grains.

2° Dissociation des grains entre eux.

3° Diminution progressive du diamètre apparent des grains jusqu'à disparition totale.

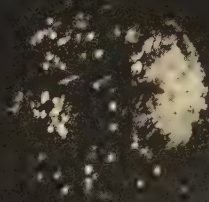
4° Subsistance de certains groupes de grains qui paraissent inattaquables.

En résumé le phénomène final les coagulations que j'ai observées est l'*immobilisation*, la *densification* et le *groupement des grains*, celui des digestions dont j'ai parlé, est la *mobilisation*, la *séparation* et la *dissolution* des grains.

Planche III



Deux aspects d'une
Pepsine



Lait se coagulant

I

II

III

IV

V



Coagulation du lait

CHAPITRE III

COAGULATION DU LAIT

Mais si nous avons jusqu'à présent vu pendant leur coagulation l'état primordial et l'état final des substances coagulables que je veux étudier, nous n'avons pas vu la façon dont se produit le phénomène, c'est elle qu'il faut maintenant décrire.

Observons par exemple la coagulation du lait par le lab.

J'ai décrit plus haut l'aspect ultra-microscopique de l'un et de l'autre, je n'y reviens pas, et j'entre de suite dans l'expérimentation.

Je prends une goutte de lab commercial que je dépose sur une lame, et à côté, à 0^m/_m5 environ je dépose une goutte de lait de vache dilué au 1/100^e, je place la lame sur la platine du microscope, sans protéger la préparation et je mets au point en plongeant dans un des liquides ; je plonge dans le lait ou dans le lab, mais il est bien préférable de plonger dans le lab parce que, moins riche en granulations, il offre un fond plus noir. Je donne des très légers chocs à la lame de manière à provoquer la fusion des deux gouttes de liquide. Je vois un nuage opalescent parsemé de points brillants s'avancer dans le champ du microscope : c'est le lait qui vient se mêler au lab. C'est alors que commence le phénomène.

D'abord rien de particulier ne se manifeste, on voit simplement les grains de lab conservant leurs vifs mouvements, les transmettre un peu aux grains beaucoup plus lents que contient le lait et que je considère comme étant très probablement pour la plupart des grains de caséine. Ces grains ont en effet les caractères des grains des substances albuminoïdes : ils sont pâles, flous, à bords peu nets, peu mobiles, non scintillants. Ils sont d'autre part très abondants. Or la caséine étant l'albumine la plus abondante du lait, il y a des probabilités pour que ces grains lui appartiennent.

Mais au bout de quelques instants, on voit le fond de la préparation s'éclairer très légèrement, puis un fin piqueté de points blancs, lumineux, se détacher, exactement comme si l'on avait affaire à un colloïde négatif dans un milieu devenant acide. Ces grains grossissent, deviennent aussi nets que ceux qui préexistaient dans le lait, ils sont mobiles comme eux, mais leurs contours sont plus nets et leurs mouvements plus vifs semblent leur être transmis par les grains du lab qui de tous côtés les heurtent et les bousculent. L'apparition de ces grains est semblable à ce que décrivent Mayer, Schaeffer, et Terroine pour les colloïdes négatifs en présence d'acide.

De toutes parts maintenant, ces grains innombrables se heurtent dans tous les sens, s'entourent, se réunissent, se séparent. Parfois deux grains s'accroissent, puis trois, quatre, dix. Un autre groupe se forme, un troisième, deux groupes déjà formés se fusionnent, et peu à peu de la fusion des grains et

des groupes de grains se forment des masses de plus en plus volumineuses qui examinées à l'éclairage ordinaire, c'est-à-dire par transparence, se montrent comme des coagula nouveaux de lait. Cependant, quand dans la préparation tout est coagulé, il demeure encore des grains qui n'entrent pas dans la constitution des caillots et restent indépendants. Ces grains sont très mobiles, scintillants, à bords nets et bien tranchés, ils ont les caractères des grains de lab. Nous allons plus loin, dans d'autres coagulations, retrouver le même phénomène dans des conditions telles que nous pouvons penser dès à présent que ces grains sont bien des grains de lab.

Si nous coagulons du lait par la pepsine nous obtenons exactement la même suite de phénomènes, et après l'opération subsistent encore des grains mobiles, scintillants, non incorporés aux coagula et qui ont tous les caractères de grains de ferment.

Je me contente ici d'exposer les faits, plus loin je tenterai de les interpréter, et je passe maintenant à deux autres coagulations d'ailleurs semblables entre elles, beaucoup plus délicates à observer et à suivre : celles du sang et la lymphe.

CHAPITRE IV

COAGULATION DU SANG ET DE LA LYMPHE

Lorsqu'on place une goutte de sang diluée avec du sérum physiologique à raison de 1 de sang p. 10 de sérum sur la lame de l'ultra-microscope et qu'on observe ce qui s'y passe, on peut observer la coagulation car elle se produit alors moins en masse et les éléments figurés du sang sont suffisamment séparés les uns des autres pour ne pas gêner l'observation.

Voici une plaquette de Hayem, ou une hémocoenie. Elle accuse son contour très lumineux, elle est immobile ou à peu près. Tout à coup, sans qu'une action évidente mécanique ou physique se soit produite, sans qu'il y ait eu de changement dans l'état ou le mouvement des nombreux grains scintillants ou non, lumineux ou pâles, nets ou flous qui s'agitent dans le champ du microscope, on voit apparaître en un point de l'hémocoenie ou de la plaquette, une protubérance terminée en pointe très fine, et dont la base semble être un grain plus volumineux, Ce grain grossit, la protubérance s'allonge, un nouveau grain se développe, l'extrémité de la pointe de la protubérance continue à s'allonger, un 3^e grain naît sur la pointe de la seconde. La protubérance devient une petite aiguille qui continue à grandir constitué aussi de grains d'abord imperceptibles puis plus nets se groupant en chapelet jusqu'à ce que, à un certain moment, l'aiguille cesse de grandir.

C'est le même phénomène que pour la coagulation

du lait : grains très fins devenant peu à peu visibles et se groupant, mais ici, ce qui diffère, c'est que le groupement est linéaire et non pas en masse comme pour le lait.

Quand on observe la coagulation de la lymphe, on opère bien entendu sans dilution et l'on constate que c'est autour des grains, en général, quelle que soit leur nature, contenus dans le liquide, que se forment les aiguilles de fibrine qui de là partent en rayonnant dans toutes les directions.

CHAPITRE V

DIGESTION DE L'OVALBUMINE PAR LA PEPSINE

Pour permettre de bien suivre la description du phénomène je rappelle ce que j'ai dit plus haut des caractères de l'ovalbumine et de la pepsine.

J'ai préparé des solutions de pepsine extractive aux titres de 1, de 2, et de 5 0/00 ce sont des solutions très légèrement opalescentes qui observées à l'ultra se présentent comme formées de grains extrêmement mobiles, très scintillants, très lumineux et, caractère essentiel, apparaissant comme s'ils étaient des disques brillants se déplaçant toujours sur leur tranche et dans les plans les plus divers, plongeant et remontant dans la préparation. Ces caractères sont extrêmement nets à condition que l'on observe le ferment dans le milieu dont la réaction soit celle pour laquelle il agit le mieux, soit pour la pepsine une acidité de 5 0/00 HCl environ (*Duclaux*) (1). Ces grains peuvent être parfaitement différenciés de ceux de l'ovalbumine, qui sont, eux, pâles et flous, ne plongeant pas dans la profondeur de la préparation et demeurant toujours dans un même plan. Si on regarde successivement une solution de pepsine en milieu acide (HCl 5 0/00) et une solution neutre ou très légèrement acide de blanc d'œuf, on est frappé de la différence très considérable des grains de l'une et de l'autre ; dans la seconde outre les grains pâles dont je viens de parler, on aperçoit des plages claires sans contours qui se

(1) Traité de Microbiologie — Masson et C^e Paris — 1899.

fondent insensiblement dans la teinte ambiante, des sortes de nébuleuses indistinctes qui glissent lentement ou restent immobiles dans leur ensemble sans qu'on puisse juger si des mouvements existent dans leur masse.

Je dois noter qu'un caractère qui est commun aux deux solutions est l'augmentation de l'activité des mouvements des grains sous l'action de la chaleur ; elle est surtout marquée vers $+ 44^{\circ}$.

J'ai repris cette expérience après *Aggazzotti* et constaté les faits suivants, dont plusieurs sont semblables à ceux décrits par cet auteur. Mêlons sous l'ultra-microscope, dans les mêmes conditions que pour le lait, une goutte de chacune des solutions de pepsine et d'albumine, en ayant soin que la température ambiante atteigne au moins $+ 30^{\circ}$. Nous ne voyons d'abord comme pour la coagulation du lait qu'une solution offrant à la fois des grains scintillants, des grains pâles et des nébuleuses. Puis au bout de quelques instants, les nébuleuses deviennent plus claires et semblent se résorber en une infinité de petits grains très fins qui rebondissent sous le choc des grains très mobiles de ferment. A mesure que se fait cette apparition de grains fins, le fond de la préparation devient plus sombre ; de toutes parts ce n'est plus que grains agités, beaucoup plus au voisinage des grains de pepsine, beaucoup moins, loin de ces mêmes grains. Et alors se présente un troisième aspect : tous ces petits grains se réunissent par 3 ou 4, d'autant plus vite qu'ils sont plus agités par les grains de pepsine, ces petits groupes s'unissent à leur tour et se congloèrent, leurs grains augmentent d'éclat, leurs mouvements

se ralentissent et cessent : ce sont des coagula. Il arrive que ces coagula se forment par fixation de grains d'albumine sur un grain de ferment emprisonnant ce grain dans le coagulum, mais le fait est rare et c'est presque toujours par groupement de grains d'albumine entre eux. Cette coagulation faite, il demeure encore des grains scintillants, nets, mobiles, brillants. Il semble que ce soit là des grains de ferment, qui restent pour la plupart libres, mobiles et capables d'intervenir dans la coagulation de nouvelles quantités d'albumine, car si on remet une goutte de la solution d'ovalbumine dans le liquide déjà coagulé une nouvelle coagulation se produit.

La deuxième partie de l'action de la pepsine sur l'ovalbumine, celle qui consiste en la dissociation des coagula : la digestion, s'opère encore, semble-t-il, sous l'influence des mouvements des grains scintillants de pepsine ; ces grains très mobiles heurtent les blocs coagulés, les déplacent, les érodent, enlevant un grain ici, un grain là, ces grains se trouvent alors isolés on les voit peu à peu diminuer de volume, de luminosité, de mobilité, ils sont bientôt invisibles et tous ces grains plongés dans le milieu digestif acide sont bientôt dissous.

Il demeure seulement comme je l'indiquais plus haut des groupements qui paraissent inattaquables et les grains de ferment toujours mobiles et scintillants.

Ici se termine cette étude purement observatrice ne cherchant qu'à *regarder* le lab, la pepsine, la

plasmase, et à les décrire, à les différencier d'autres éléments, à les voir agir.

Elle se résume en ces quelques mots :

Alors que les corps pseudo-solubles dépourvus de propriétés diastasiques offrent dans l'organisme des grains pâles, à bords flous, peu mobiles, non scintillants, au contraire les corps pseudo-solubles possédant des propriétés diastasiques que j'ai étudiés ont des grains brillants, à bords nets, très mobiles, très scintillants.

Ces grains peuvent avoir leurs caractères modifiés par divers agents : salure, eau, chaleur, lumière, etc,

Ils peuvent *mourir* et devenir semblables à ceux des corps non diastasiques, ou même perdre tout mouvement.

Enfin dans les phénomènes diastasiques, on les voit s'agiter, se mouvoir intensément, ils semblent diriger le phénomène. De cela je ne veux point préjuger, mais il faut que je mette ici en présence les faits que je viens d'énoncer et les théories de M. le Prof. R. Dubois.

THÉORIE MÉCANIQUE DU BRASSAGE ZYMASIQUE

D'après ce que nous avons vu jusqu'à présent, on peut penser que, dans les coagulations que j'ai décrites, les grains scintillants, très mobiles qui, appartenant à la zymase, interviennent dans ces coagulations, ne sont pas de simples épiphénomènes et qu'ils jouent un rôle dans la formation des coagula par leur mouvement même.

En effet, ils semblent avoir une action mécanique bien marquée sur les grains de la substance coagulable. Ils les heurtent, les poussent dans divers sens et diverses directions, les culbutent, les jettent les uns sur les autres d'une façon curieuse à voir. De plus la coagulation se montre la plus active dans les points de la préparation où les grains scintillants sont les plus nombreux. Toujours elle se produit autour d'eux, dans leur voisinage immédiat. En leur absence, elle n'a pas lieu.

Les actions qui détruisent le pouvoir coagulant du ferment détruisent les mouvements des grains. Ainsi la chaleur, comme je l'ai fait voir plus haut, ralentit puis arrête les grains lorsqu'elle s'élève au-delà de l'optimum, de même qu'elle ralentit puis arrête l'action coagulante du ferment. Le ferment, nous le savons, agit sans se combiner lui-même, il ne subit qu'une perte de poids insignifiante dans les réactions auxquelles il préside et peut agir sur des poids de substance coagulable plusieurs milliers de fois plus considérables que le sien propre. Ces proprié

tés conviennent parfaitement aux grains scintillants. Nous avons vu qu'ils ne se trouvent pas inclus dans les coagula sinon accidentellement, qu'ils actionnent de grandes quantités de grains coagulables et qu'après une première coagulation, ils sont capables de présider encore à d'autres. Ils n'ont pas subi de combinaison ni de groupement. Ils ont simplement actionné mécaniquement les autres grains.

Et tout cela, valable pour la coagulation, l'est aussi pour la digestion que je décrivais plus haut : là encore choc, heurt, dispersion des grains coagulés, persistance des grains de zymase.

Mais alors il nous faut tenter d'expliquer comment ces grains scintillants agissent dans la coagulation. Sont-ils les agents actifs, sont-ils les « *primum moventes* », peut-on dire qu'ils coagulent ou qu'ils digèrent, ou bien au contraire sont-ils des adjuvants, des causes secondes, doit-on dire qu'ils activent la coagulation ou la digestion ?

Nous savons depuis les travaux de *Cohnheim* principalement que les albumines sont à l'état coagulé ou à l'état pseudo-dissous suivant la réaction du milieu où elles se trouvent. Elles sont à l'état coagulé lorsque le milieu où elles se trouvent est de même réaction qu'elles, à l'état pseudo-dissous dans le cas contraire.

Ainsi la caséine demeure dissoute tant que la réaction du lait est au-dessous de sa propre acidité, elle se coagule au-delà. Les albumines à réaction faiblement acide se coagulent en milieu très légèrement acide. Ainsi l'ovalbumine se coagule en présence de très peu d'acide, la pepsine au contraire,

extrêmement acide, ne se coagule qu'à des teneurs acides extrêmement élevées. D'autre part, le rôle des sels est très net, les sels concentrés coagulent et les sels dilués dissolvent en général les albumines. Les sels de chaux ont un pouvoir coagulant généralement très marqué, etc...

Sans nous arrêter à des indications précises de chimie, qui sortiraient du cadre de ce travail et sont d'ailleurs trop connues pour nous occuper, prenons des exemples pratiques.

Soit la coagulation de l'ovalbumine, elle se produit spontanément sans la moindre intervention de ferment dans un milieu acide et ultérieurement, sous l'action même de cet acide, l'albumine coagulée se dissout et cette fois non en pseudo-solution, mais en solution vraie et en changeant de constitution, en donnant des peptones, des acides amidés, etc... Les produits de cette double action ne diffèrent pas sensiblement de ceux d'une digestion pepsique (*Cohnheim*). Il semble donc bien que la pepsine ne soit pas nécessaire pour obtenir une digestion, et elle ne fait que probablement rendre plus rapide cette action. C'est pourquoi *Duclaux* a dit qu'il faut donc considérer le ferment non comme provoquant, mais comme activant la coagulation et la dissolution.

Mais comment va se faire cette activation, comment les grains que je décrivais plus haut vont-ils provoquer une accélération dans le processus coagulant, puis dans le processus dissolutif ?

Dans toute réaction chimique, on le sait depuis bien longtemps, le renouvellement fréquent des

surfaces de contact des corps réagissants augmente dans des proportions considérables l'intensité de la réaction ; c'est ce que l'on constate par exemple lorsque, versant quelques gouttes d'acide sur l'ovalbumine, on voit se produire une légère coagulation et qu'agitant le mélange avec une tige de verre, on voit la coagulation devenir plus rapide et plus intense. Il semble que les grains de ferment si mobiles, si trémulants, agissent de la même façon, ils brassent et mélangent constamment les grains d'albumine avec la solution acide de telle sorte que tous les grains sont très rapidement mis en présence de cette solution et coagulés par elle suivant les lois mises en lumière par *Cohnheim*.

Cohnheim a montré que pour un albuminoïde quelconque « une coagulation totale ne peut se produire qu'en milieu légèrement acide ». Si d'autre part on dialyse longuement une albumine jusqu'à la priver de tout sel, la chaleur même ne la coagule plus. Donc les sels sont nécessaires à la coagulation et les acides nécessaires à la coagulation totale.

Ceci n'est point en désaccord avec ce que dit Duclaux du lait. La coagulation de la caséine se produit, dit-il, sans changement de la réaction du milieu. Sans doute, mais les autres albumines ne sont pas coagulées. Il suffit donc pour cela d'un milieu salin.

De plus il n'est peut-être pas absolument certain que la coagulation du lait puisse se faire vraiment sans *aucun* changement de réaction, car *Cohnheim* montre que toute coagulation se traduit par une alcalinisation.

Enfin Cohnheim fait ressortir que dans un milieu très légèrement acide ou mieux amphotère, comme le lait, une trace de sel provoque la coagulation. Dans un milieu légèrement acide par nature comme l'ovalbumine, il en sera de même, ainsi que pour la fibrine.

Il s'agit là bien entendu, d'acidités de l'ordre de celle qui est relative aux ions H par rapport aux ions O-H, mais elle est suffisante pour expliquer les faits.

D'autre part, Zsigmondy a montré que les colloïdes minéraux sont précipités à l'état cristalloïde par des électrolytes divers par exemple NaCl (Nombre d'or) que cette réaction est empêchée par la présence de colloïdes stables comme les colloïdes organiques, mais si ces colloïdes organiques ont un nombre d'or peu élevé, la réaction se fait facilement, les colloïdes organiques considérés ne s'y opposent que faiblement. C'est ce qui se passe dans les milieux amphotères ou alcalins ou acides, comme le sont tous les liquides de l'organisme animal.

Voici alors comment on peut expliquer ce que nous avons vu.

Dans toutes les pseudo-solutions colloïdales de l'organisme, nous avons des sels colloïdaux, principalement du phosphate de chaux colloïdal. Comme tous les colloïdes métalliques, ces sels tendent spontanément, en présence d'électrolytes divers du milieu, au passage à l'état cristalloïdal.

Il en résulte la formation incessante de sels dissous dans le milieu observé. La salure augmentant ainsi sans cesse, on conçoit que tous les liquides albumi-

neux de l'organisme tendent spontanément vers la coagulation.

Que vont faire les grains de ferment ? Simple-
ment agiter et brasser dans toute la masse ces sels
dissous et activer ainsi dans une proportion égale
à leur nombre et à leur surface de brassage l'action
coagulante.

Outre les sels, un autre élément intervient, c'est
l'oxygène. Son action était indiquée dès longtemps,
mais dans la thèse de M. Marchand, inspirée par
M. le Prof. R. Dubois, elle a été excellemment mise
en lumière en ce qui concerne la coagulation du
sang.

L'oxygène ainsi va être brassé de la surface vers la
profondeur et activera la coagulation. Toutefois ces
mouvements de brassage et d'agitation, que je con-
sidère, de même que M. le Prof. R. Dubois comme
très importants, comme primordiaux et essentiels
même, ne doivent pas être jugés comme interve-
nant *seuls* dans l'action qui nous occupe. Les phé-
nomènes diastasiques sont spécifiques, il y a donc
outre l'action motrice ci-dessus indiquée, l'action de
fixation, purement catalytique que M. le Prof. Du-
bois a bien mise en lumière en ce qui concerne la
purpurine et la purpurase, et qui n'est autre chose
que le gonflement des grains, leur passage de l'état
ultramicroscopique à l'état microscopique et cela
sans par pénétration dialytique de l'eau et, grâce
à elle, des divers éléments dissous du milieu am-
biant dans leur intérieur. Mais je pense que cette
dialyse et ce gonflement des grains sont encore
sous la dépendance du brassage du milieu par les

grains de ferment, brassage modifiant les conditions d'équilibre des grains, mélangeant les couches superficielles du liquide observé, plus ou moins aérées aux couches profondes qui le sont peu, changeant en certains points, surtout dans des liquides visqueux, les conditions de diffusion et, par suite, d'omose.

Quoiqu'il en soit, le brassage semble être le phénomène le plus important de l'action diastasique, et les autres éléments conditionnant cette action semblent dériver de lui.

Je dois ici noter que déjà, M. le Prof. Dubois avait tenté par un *brassage artificiel* d'obtenir sur de l'amygdaline, sur de l'empois d'amidon, sur du saccharose des transformations semblables à celles ordinairement obtenues par les diastases. Ces expériences ne réussirent pas ; mais il n'est pas lieu d'en conclure que l'idée directrice fût inexacte.

En effet M. Dubois employait comme instrumentation le diapason imaginé par M Bovier Lapierre et présenté à la Société de Biologie en 1888 (C. R. Soc. Biol. 1888 - VIII - 40 p. 797). Et certes un diapason vibrant à 100 vibrations et plus par seconde semblerait permettre a priori d'obtenir un résultat satisfaisant.

Mais cependant il faudrait deux éléments autres pour obtenir cette action.

En premier lieu avoir un nombre de vibrations égal à celui que présentent les grains de la diastase agissant ordinairement sur le corps considéré.

Deuxièmement avoir un diapason à ton réglable,

ton qui le plus souvent serait bien différent de celui employé par M. Bovier Lapierre, tantôt en plus, tantôt en moins.

Dans le but d'étudier la vitesse de vibration des grains diastasiques, je poursuis en ce moment des recherches qui seront exposées ultérieurement.

Mais, même avec la réalisation de ces conditions, manquerait, semble-t-il, un élément important : la présence des petits dialyseurs que la vibration toute seule ne peut remplacer.

Toutes ces données ne sont, bien entendu, comme celles qui les ont précédées que des hypothèses, mais elles paraissent bien en accord avec les faits expérimentaux exposés plus haut, et, nous n'avons pas, en nous appuyant sur elles de ces contradictions et de ces impossibilités comme nous les avons vues antérieurement avec les théories anciennes.

L'action d'une petite masse de ferment pour modifier de grandes quantités de matière, son usure progressive, son action proportionnelle aux masses transformées et à transformer, ses modifications par la chaleur, les acides, les divers agents physiques et chimiques, ses propriétés adhésives, etc... tout cela s'explique avec la plus grande netteté en admettant l'hypothèse brassage et dialyse, et il semble bien que l'on puisse considérer les actes diastasiques comme *surtout*, comme *primordialement mécaniques*.

CONCLUSIONS

Des faits exposés ci-dessus, les conclusions suivantes peuvent être déduites.

1° -) Un certain nombre de zymases, en particulier le lab, la pepsine extractive, la ptyaline, la papaine, la plasmase, présentent, en solution dans leur milieu naturel, des granulations constitutives très mobiles et caractéristiques de ces zymases par leur mode de mouvement dans divers plans, leur scintillement et leur rapidité.

2° -) Les pseudo-solutions d'albuminoïdes non diastasiques se présentent dans leur milieu normal, comme formées de grains nombreux d'aspect différent de ceux des zymases. Ils sont lents, ne se déplaçant que dans un seul plan, non scintillants et peu lumineux.

3° -) Dans un certain nombre d'actions diastasiques, en particulier dans les coagulations du lait, du sang, de la lymphe, et dans la digestion de l'ovalbumine, on voit les grains de zymases propres à ces coagulations et à cette digestion actionner mécaniquement par heurts et par chocs les grains des albuminoïdes coagulables ou digestibles.

4° -) Le lab, la pepsine et la plasmase, pseudo dissous dans le milieu où ils agissent normalement apparaissent donc comme constitués par des granulations colloïdales possédant des caractères optiques

spéciaux, et lorsqu'ils interviennent dans une fermentation, on constate qu'ils y interviennent principalement en tant qu'agents mécaniques, et que le rôle des diastases est surtout un rôle mécanique ; les phénomènes électriques et physiques qui se produisent dans leur action n'étant que des causes ou des effets de ce mouvement, élément essentiel de l'acte fermentatif.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Des Principaux AUTEURS Consultés

- AGAZZOTTI (A) Osservazioni ultramicroscopiche sui processi fermentativi 1907 — Zeitscher. f. Algem. Physiol. Bd VII. p. 862.
- ARTHUS & PAGES Nouvelle théorie chimique de la coagulation du sang (Arch. physiol. 1890 p. 739).
- ARTHUS Sur la genèse du fibrin-ferment (C. R. Soc. Biol. 1903 p. 13-50).
- BECHAMP Du rôle et de l'origine de certains microzymas — C. R. T. XCII — 1881.
- Les Microzymas — Arch. Physiol. 1882.
- Lettres sur la théorie du microzyma — Gaz. Med. de Paris 1886).
- BEAUNIS Traité de Physiologie.
- CHAMBERLAND & ROUX De la non-existence du microzyma cretaæ — C. R. — T. XCII — 1881.
- COMMANDON L'ultramicroscope et la cinématographie — Presse Médicale. N° 93 — P. 841 — 1909.
- COTTON & MOUTON Les ultramicroscopes, les objets ultramicroscopiques, Masson, Paris, 1907.
- DAVID (D. J.) Ultramicroscopic observations of cerebrospinal fluid and blood, Trans. Chicago. Path. Soc. T. V.S.F. 7 Nov. 1904.
- DENIS Recherches expérimentales sur le sang humain 1830.
- Sur la plasmine — C. R. Acad. Sciences — 1861.
- HOPPE-SEYLER Ueber Activierung von Sauerstoff durch Wessersstoff und Entstehungs momente — Zetschr. F. Phys. Ch. t. 11 — 1885.
- HOPPE-SEYLER Erregung des Sauerstoffs durch nascirenden Wasserstoff — Ber. d. d. Ch. Geselsch. t. XII-1879.
- DUBOIS R. Article « Hydratation » du dictionnaire de Physiologie de Richet — 1909.
- Leçons de physiologie générale et comparée — Carré et Naud — Paris 1898.
- Sur la solidification du fil de soie du Bombyx mori — 1889-90.
- Les Elaterides lumineux. Contribution à l'étude de

- la lumière produite par les êtres vivants — (Thèse doct, es-sc. Paris 1886).
- Mécanisme intime de la formation de la Luciferine (C. R. Soc. Biol. 1907 p. 850).
- DUBOURG L'amylase de l'urine — Th. Paris 1889.
- DUCLAUX Traité de Microbiologie 1883 Paris.
- FAURE-FREMIET C. R. Soc. Biologie 8 mars 1909.
- FERNET Précis de physique.
- GAIDUKOV Über die Ultramikroskopischen Eigenschaften der Protoplasten. — Deutsch. Biosch. ges. Bd. XXIV S. 192, 1906.
- Dunkelfeld beleuchtung und ultramicroscopie in der Biologie und in der Medizin G. Fischer — Jéva 1890.
- GANOT Précis de physique.
- GARNIER In Encyclopedie chimique Fremy Chimie des liquides et tissus de l'Organisme 1873.
- GASTOU L'ultramicroscope dans le diagnostic clinique et les recherches de laboratoire.
- HAMMARSTEN Zeitschr. f. Phys. Chem. t. X0II-1896 p. 333.
- HOPPE SEYLER Physiologische chemie 1878-1882. (Action des sels). Phys. chemie p. 116.
- Ber. d. d. Chem. Geselsch. t. XXX — 1897 (Absorption des diastases).
- WROBLEWSKY Du Rhodium colloïdal électrique — C. R. Acad. Sc. 27 nov. 1911.
- LANCIEN (A) Emploi thérapeutique du Radium Colloïdal — Soc Med. Hap. Paris 21 oc. 1911.
- LANCIEN & THIROLOIX Traité de Physiologie, p. 289 et suiv.
- LANDOIS Etudes ultramicroscopiques sur les colloïdes organiques, les globulines et le plasma sanguin. C. R. Soc. Biol. et Senez L. XIII, p. 42 — 184 — 553 — 621 — 658. 1907.
- MAYER (A)
- MAYER & SCHAEFFER Sur la structure ultramicroscopique des émpois d'amidon et de leurs constituants — C. R. Soc. Biol, T. LXIV — p. 55 9, '908.
- MAYER, SCHAEFFER & TERROINE Sur la grandeur des granules colloïdaux — C R Soc Biol. 25 Nov. 1907.
- MOREL (A) Précis de technique chimique — Ultramicroscopie, p. 81 — 1898.
- MORITZ & GLENDINNING Jour. of. chem. Soc. 1892, p. 630. (Loi de proportionnalité).
- O'SULLIVAN & THOMPSON Journ. of. chem. soc. t. II — (Loi de proportionnalité).
- PAYEN & PERSOZ Ann. de ch. et de Phys. t. LIII & LVI.
- PECKELHARING Verhandl. d. Konig. Akad. d. Wissench. zu Amsterdam 1892 Central blatt, für Physiol. t. IX. 1895. Virchow. s Festschrift.

- Ueber die Bedeutung des Kalksalze für die gerinnung des Blutes 1891.
Journ. of. chem. Soc. p. 137 — 1892.
- PICTET & LINDEN Ueber ultramicroscopische untersuchen von glycogen.
Albuminsubstanzen und Bacterien — Berlin, Klin,
RAEHLMANN Woch, N° 8 — 512 — 1906.
- ROUX & YERSIN Ann. Inst. past. t. II — 1894 p. 629.
- RUSSO Conditions de Vie du Platyplasma — Arch Intern.
Physiol — Sept. 1910.
- Essai d'une théorie nouvelle des diastases — Rev.
des Idées. 15 déc. 1911.
- RUSSO & MOURIQUAND Caractères ultramicroscopiques de quelques laits.
Lyon — 1910. Soc. Med. Hop.
- SIEDENTOPF On the rednering visible of ultramicroscopic parti-
cles and of ultramicroscopic bactéries. Journ. Roy.
Soc. p. 573 -- 578, 1903.
- SIEDENTOPF
& ZSIGSMONDY Ueber die grossenbestimmung ultramicroskopischen
Teilchen, 1903.
- Gaidukov. Dunkelfeld beleuchtung und ul-
tramicroscopie. Zeitschr. Wissen Mikroskop. Bd.
XXIV, p. 13-50, 1907.
- ZSIGSMONDY Zur Erkenntniss der Kolloide — Iena 1905.
-

Bon à imprimer :

Le Professeur,

R. DUBOIS.

C. DEPÉRET

Julien RAY.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon le 22 décembre 1911.

Le Recteur de l'Académie,

JOUBIN.

Vu et approuvé :

Le Doyen,

C. DEPÉRET.
